

ORSAY
Série A
N° d'ordre

1039

T H E S E

PRESENTEE

A L'UNIVERSITE DE PARIS-SUD
CENTRE D'ORSAY

POUR OBTENIR

LE GRADE DE DOCTEUR ES SCIENCES PHYSIQUES

par

Jean-Pierre BEAUCOURT

AMINOACIDES, AMINOCETOACIDES, AMINOCETONES
D'INTERET BIOLOGIQUE MARQUES AU CARBONE 14

Soutenue le 28 novembre 1972, devant la Commission d'Examen

MM. P. FREON

Président

M. VILKAS

L. PICHAT

Examineurs

ORSAY
Série A
N° d'ordre

1039

T H E S E

PRESENTÉE

**A L'UNIVERSITE DE PARIS-SUD
CENTRE D'ORSAY**

POUR OBTENIR

LE GRADE DE DOCTEUR ES SCIENCES PHYSIQUES

par

Jean-Pierre BEAUCOURT

**AMINOACIDES, AMINOCETOACIDES, AMINOCETONES
D'INTERET BIOLOGIQUE MARQUES AU CARBONE 14**



Soutenue le 28 novembre 1972, devant la Commission d'Examen

MM. P. FREON

Président

M. VILKAS

L. PICHAT

Examineurs



Ces travaux ont été effectués intégralement dans les laboratoires du Service des Molécules Marquées au Centre d'Etudes Nucléaires de Saclay.

Je remercie Monsieur le Professeur FREON qui a bien voulu présider le jury de cette thèse après avoir suivi l'avancement de mes travaux.

Je remercie Monsieur le Professeur VILKAS d'avoir accepté de faire partie du jury de cette thèse.

Je tiens à témoigner ma reconnaissance et à remercier Monsieur PICHAT qui m'a accueilli dans son Service et m'a judicieusement guidé dans mon travail.

Je remercie Monsieur HERBERT qui m'a initié aux techniques de la synthèse des molécules marquées et m'a souvent aidé de ses utiles conseils.

Enfin j'adresse mes remerciements à tous ceux qui m'ont entouré pendant mon travail de thèse, en particulier le personnel des Molécules Marquées et mes camarades de laboratoire.



Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41547102_0007

TABLE DES MATIERES

p. 10	- INTRODUCTION
p. 10	I - Intérêt de δ A A L (^{14}C)
p. 14	II - Synthèses existantes de δ A A L (^{14}C -4) ou (^{14}C -5)
p. 17	III - Particularités de la synthèse des molécules marquées au ^{14}C
p. 20	- <u>CHAPITRE I</u> -
p. 20	I - Méthodes chromatographiques de purification
p. 23	II - Méthodes de contrôle de pureté
p. 28	- <u>CHAPITRE II</u> - EMPLOI DU MALONATE DE TMS POUR LA SYNTHESE DE δ A A L (^{14}C -4) OU (^{14}C -5)
p. 28	I - Intérêt des dérivés silylés
p. 32	II - Intérêt des dérivés organolithiés
p. 32	III - Essais inactifs
p. 38	IV - Essais traceurs
p. 40	V - Synthèse active
p. 42	VI - Nouveaux essais traceurs
p. 44	VII - Conclusion

Partie Expérimentale

p. 46	I - Dosage de l'agent lithiant
p. 47	II - Mode opératoire général
p. 49	III - Nouveau mode opératoire adopté
p. 52	IV - Résultats

p. 57	- <u>CHAPITRE III</u> - GENERALISATION DE L'EMPLOI DU MALONATE DE TMS POUR LA SYNTHÈSE D'ESTERS β -CÉTONIQUES(^{14}C) A PARTIR D'ACIDES CARBOXYLIQUES (^{14}C)
-------	--

p. 57	- Généralités
-------	---------------

Partie Expérimentale

p. 60	I - Mode opératoire
p. 61	II - Résultats

p. 63	- <u>CHAPITRE IV</u> - GENERALISATION DE L'EMPLOI DU MALONATE DE TMS A LA SYNTHÈSE D'AMINES α -CÉTONIQUES (^{14}C) A PARTIR D'ACIDES CARBOXYLIQUES (^{14}C)
-------	--

p. 63	I - Généralités
-------	-----------------

p. 68	II - Synthèse d'amines primaires α -cétoniques
-------	---

p. 68	1 - Emploi d'acétamido malonate de TMS
-------	--

p. 73	2 - Emploi de la glycine silylée
-------	----------------------------------

p. 77	III - Synthèse d'amines secondaires α -cétoniques
-------	--

p. 77	1 - Emploi du N-méthylamino malonate de TMS
-------	---

p. 79	2 - Emploi de la N-acétyl sarcosine silylée
-------	---

p. 80	IV - Conclusion
-------	-----------------

Partie Expérimentale

- p. 83 I - Synthèse d'amines primaires α -cétoniques
- p. 83 1 - Emploi d'acétamido malonate de TMS
- p. 91 2 - Emploi de la glycine silylée
- p. 93 3 - Emploi d'acide acéturique silylé
- p. 94 4 - Emploi de la TFA glycine silylée
- p. 95 II - Synthèse d'amines secondaires α -cétoniques
- p. 95 1 - Emploi de l'acide N-méthyl amino malonique
- p. 100 2 - Emploi de N-acétyl sarcosine silylée
- p. 104 - CHAPITRE V - SYNTHÈSE D'ADRENALONE (^{14}C -7)
- p. 104 I - Utilisation de la monométhylamine silylée
- p. 104 II - Utilisation du N-TMS N-méthyl acétamide
- p. 106 A - Synthèse au moyen du N-méthyl N-acétyl amino malonate de TMS
- p. 107 B - Synthèse au moyen du N-TMS N-méthyl acétamide

Partie Expérimentale

- p. 110 I - Utilisation de la monométhylamine silylée
- p. 112 II - Utilisation du N-TMS N-méthyl acétamide
- p. 117 - CHAPITRE VI - GENERALISATION DE L'EMPLOI DU MALONATE DE TMS POUR LA SYNTHÈSE DE CÉTONES (^{14}C) À PARTIR D'ACIDES CARBOXYLIQUES (^{14}C)
- p. 117 - Schéma général

Partie Expérimentale

- p. 122 I - Mode opératoire
- p. 123 II - Résultats

p. 127 - CHAPITRE VII - EMPLOI DE L'ETHANETRICARBOXYLATE DE
TMS EN CHIMIE ORGANIQUE

p. 127 A - Préparation de δ AAL (^{14}C -4) ou (^{14}C -5)

p. 131 B - Préparation de l'acide lévulinique (^{14}C -4)

Partie Expérimentale

p. 132 I - Ethanetricarboxylate de TMS

p. 135 II - Mode opératoire général

p. 135 III - Synthèse de δ AAL (^{14}C -4)

p. 138 IV - Synthèse de AL (^{14}C -4)

p. 140 - CHAPITRE VIII - TRANSFORMATION D'ACIDES (^{14}C carboxyle)
EN ACIDES CETONIQUES (^{14}C) PAR SYNTHÈSE
MALONIQUE A L'AIDE D'ESTERS TMS D'ACIDES
ALCANE TRICARBOXYLIQUES-1,1,2 ET -1,1,4

p. 140 - Présentation de la méthode

Partie Expérimentale

p. 144 I - Mode opératoire général

p. 147 II - Résultats

p. 151 - CHAPITRE IX - ESSAIS D'UTILISATION D'ACIDES AMINO ETHANE
POLYCARBOXYLIQUES MALONIQUES POUR LA
SYNTHÈSE DE CETO-4 ORNITHINE (^{14}C -4)

p. 151 - Présentation de la méthode

Partie Expérimentale

- p. 156 I - Emploi d'acétamido-1 éthanetétracarboxylate-1,1,2,2
de TMS
- p. 159 II - Emploi du N-bis (TMS) amino-2 éthanetricarboxylate-1,1,2
de TMS
- p. 160 - CHAPITRE X - EMPLOI DU GROUPEMENT TRIOXA-2,4,10-ADA-
MANTANE POUR LA SYNTHÈSE DE δ AAL (^{14}C -4)
- p. 160 I - Intérêt du groupe trioxa-2,4,10 adamantane
- p. 161 II - (Bromo-1 éthyl)-3 trioxa-2,4,10 adamantane
- p. 166 III - δ AAL (^{14}C -4)
- p. 169 IV - Conclusion
- p. 169 V - Essai de remplacement du groupe trioxa-2,4,10 adamantane
par le groupe diméthyl-4,4 oxazoline
- p. 170 VI - Essai de remplacement du groupe trioxa-2,4,10 adamantane
par le groupe méthyl-4 trioxa-2,6,7 bicyclo(2,2,2) octane
- p. 173 VII - Interprétation des spectres RMN

Partie Expérimentale

- p. 180 I - (Bromo-1 éthyl)3 trioxa-2,4,10 adamantane
- p. 187 II - (β carboxy (^{14}C) éthyl)-3 trioxa-2,4,10 adamantane
- p. 190 III - δ AAL (^{14}C -4)
- p. 192 IV - Essais traceurs
- p. 193 V - Synthèses actives
- p. 196 VI - Essai d'utilisation du groupe diméthyl-4,4 oxazoline
- p. 198 VII - Essai d'utilisation du groupe méthyl-4 trioxa-2,6,7
bicyclo(2,2,2) octane

- p. 201 - CHAPITRE XI - SYNTHÈSE DE δ AAL (^{14}C -4) UTILISANT LE GROUPE TRIOXA-2,4,10 ADAMANTANE ET L'ACETAMIDO MALONATE DE TMS

- p. 201 - Présentation de la méthode

Partie Expérimentale

- p. 204 I - Mode opératoire

- p. 204 II - Essais traceurs

- p. 205 III - Essai actif

- p. 206 - CHAPITRE XII - EMPLOI DU GROUPE TRIOXA-2,4,10 ADAMANTANE A LA SYNTHÈSE DE LA γ -BUTYROLACTONE (^{14}C -4) DE L'HOMOSÉRINE (^{14}C -4) ET DE LA METHIONINE (^{14}C -4)

- p. 206 I - Butyrolactone (^{14}C -4)

- p. 207 II - DL-Homosérine (^{14}C -4)

- p. 208 III - DL-méthionine (^{14}C -4)

Partie Expérimentale

- p. 211 I - γ - Butyrolactone (^{14}C -4)

- p. 213 II - DL-Homosérine (^{14}C -4)

- p. 216 III - DL- méthionine (^{14}C -4)

- p. 218 - CHAPITRE XIII - EMPLOI DES GROUPE TRIOXA-2,4,10 ADAMANTANE ET DITHIANE-1,3 POUR LA SYNTHÈSE DE δ AAL (^{14}C -5)

- p. 218 I - Intérêt des groupes trioxa-2,4,10 adamantane et dithiane-1,3

- p. 220 II - Essais de synthèse de δ AAL (^{14}C -5)

- p. 220 III - Synthèse de δ AAL (^{14}C -5)

- p. 225 IV - Résultats

p. 226

Partie Expérimentale

p. 226

I)- (β (dithiane-1,3 yl-2) éthyl)-3 trioxa-2,4,10 adamantane

p. 230

II - (β (dithiane-1,3 carboxyl(^{14}C -2) yl-2) éthyl)-3 trioxa-2,4,10
adamantane

p. 234

III - δ AAL (^{14}C -5) : Voie I

p. 237

IV - δ AAL (^{14}C -5) : Voie II

p. 240

V - Essais traceurs

p. 240

VI - Essai actif

p. 243

- CHAPITRE XIV - AUTRES ESSAIS DE SYNTHÈSE DE δ AAL (^{14}C)

p. 243

I - Essais d'utilisation de l'acide β -acétylacrylique (^{14}C -5)

p. 244

II - Synthèse de δ AAL (^{14}C -4) utilisant le nickel carbonyle

p. 245

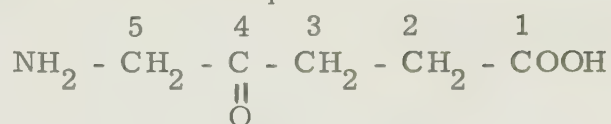
- CONCLUSION -

p. 255

- BIBLIOGRAPHIE -

ABREVIATIONS UTILISEES

δ A A L : acide δ-aminolévulique



Ci : curie

mCi : millicurie

A : activité (en mCi) ,

AS : activité spécifique (en mCi/mM)

AL : acide lévulique

TMS : triméthyl silyle - Si (CH₃)₃

TMCS : triméthylchlorosilane : ClSiMe₃

HMDS : hexaméthylidisilazane : N H (Si Me₃)₂

BSA : bis triméthylsilylacétamide : $\text{CH}_3 - \text{C} \begin{array}{l} \diagup \text{OSi Me}_3 \\ \diagdown \text{NSi Me}_3 \end{array}$

DME : diméthoxyéthane ou monoglyme

THF : tétrahydrofuranne

DMF : diméthylformamide

DMSO : diméthylsulfoxyde

HMPT : hexaméthylphosphorotriamide

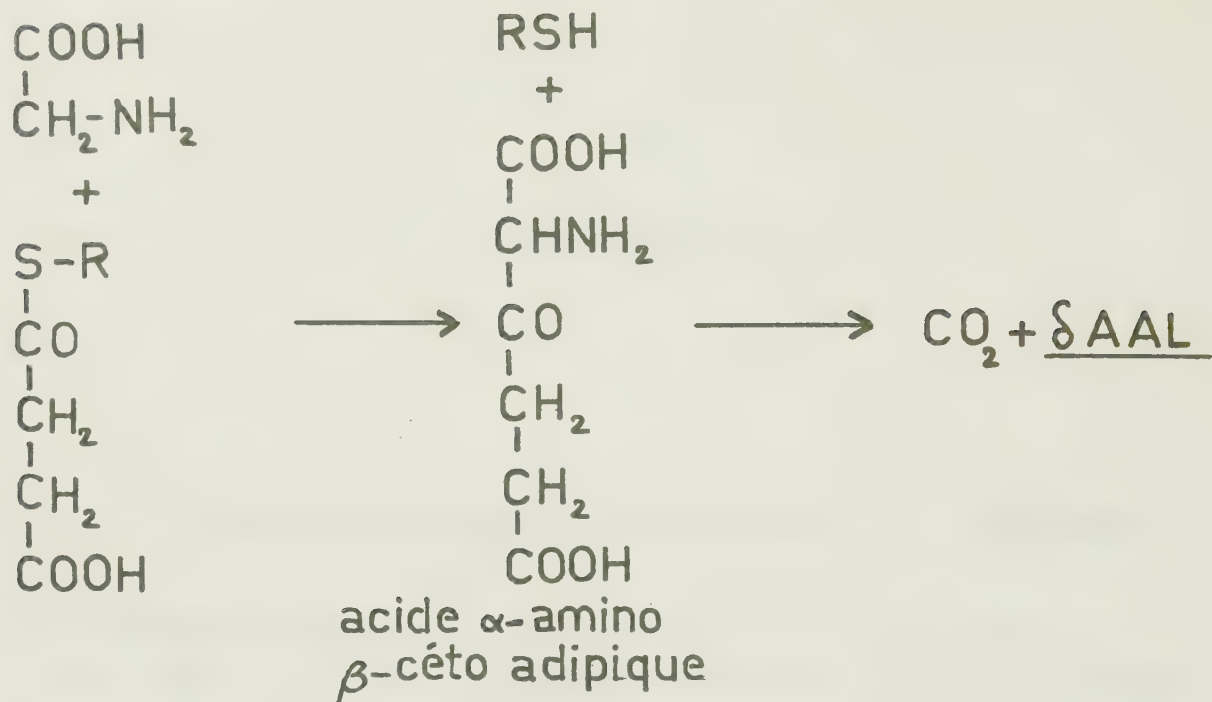
BuLi	: butyl lithium
PhLi	: phényl lithium
T F A	: trifluoroacétyle
s	: singulet
d	: doublet
t	: triplet
qa	: quadruplet
qi	: quintuplet
sx	: sextuplet
m	: multiplet

INTRODUCTION

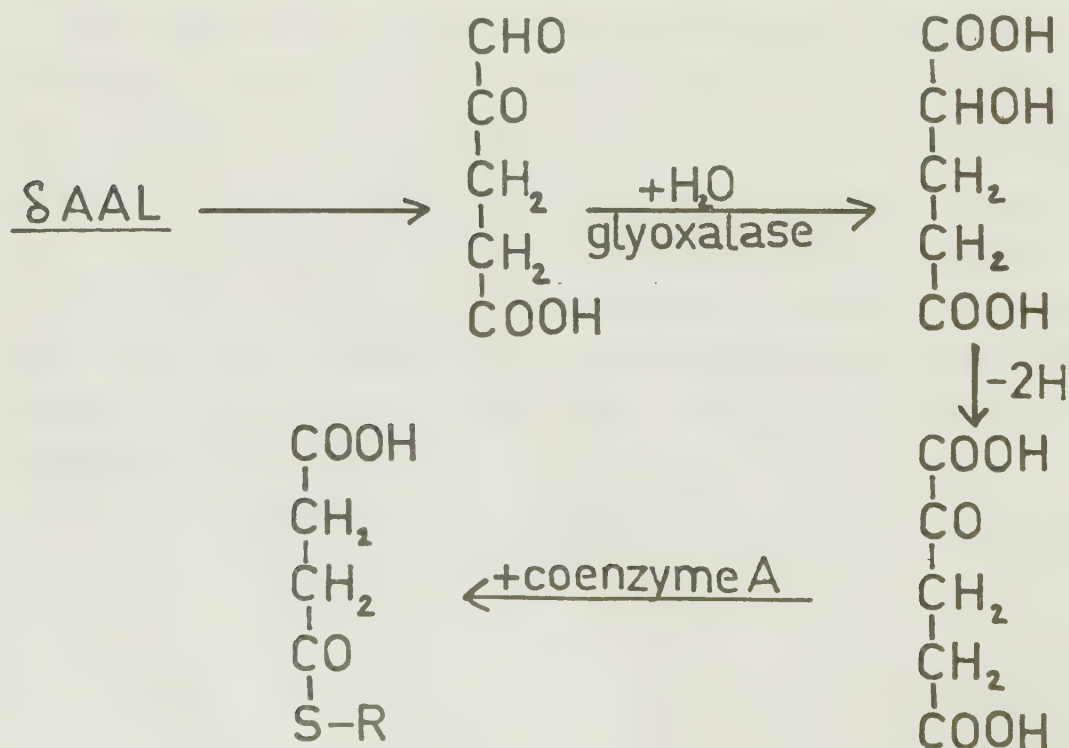
I - Intérêt de l'acide δ aminolévulique marqué au carbone 14

Pour les recherches effectuées en biochimie et en biologie, une molécule marquée par un isotope radioactif ou stable est un outil très appréciable. Plus particulièrement, le marquage au carbone 14 sera tout indiqué lorsqu'il s'agira de suivre le devenir d'une chaîne carbonée.

Les acides aminés, éléments structuraux des chaînes peptidiques des protéines, produits intermédiaires du métabolisme ou composants de substances physiologiquement actives, occupent une place très importante dans les travaux des biochimistes et des biologistes. Il en résulte une demande accrue en acides aminés marqués par des isotopes. L'importance des acides aminés essentiels, tels que l'homosérine ou la méthionine, n'est plus à démontrer. Parmi les acides aminés non essentiels, il en est un qui occupe une place bien particulière : c'est l'acide δ -aminolévulique (δ A A L) qui a fait l'objet de très nombreuses recherches. Il intervient en particulier dans le métabolisme humain, les réactions productrices d'énergie et la dégradation de la glycine. En ce qui concerne la synthèse biochimique, il a été prouvé avec certitude (1, 2, 3) qu'il y avait condensation entre le glycolle et le succinyl coenzyme A selon le schéma :



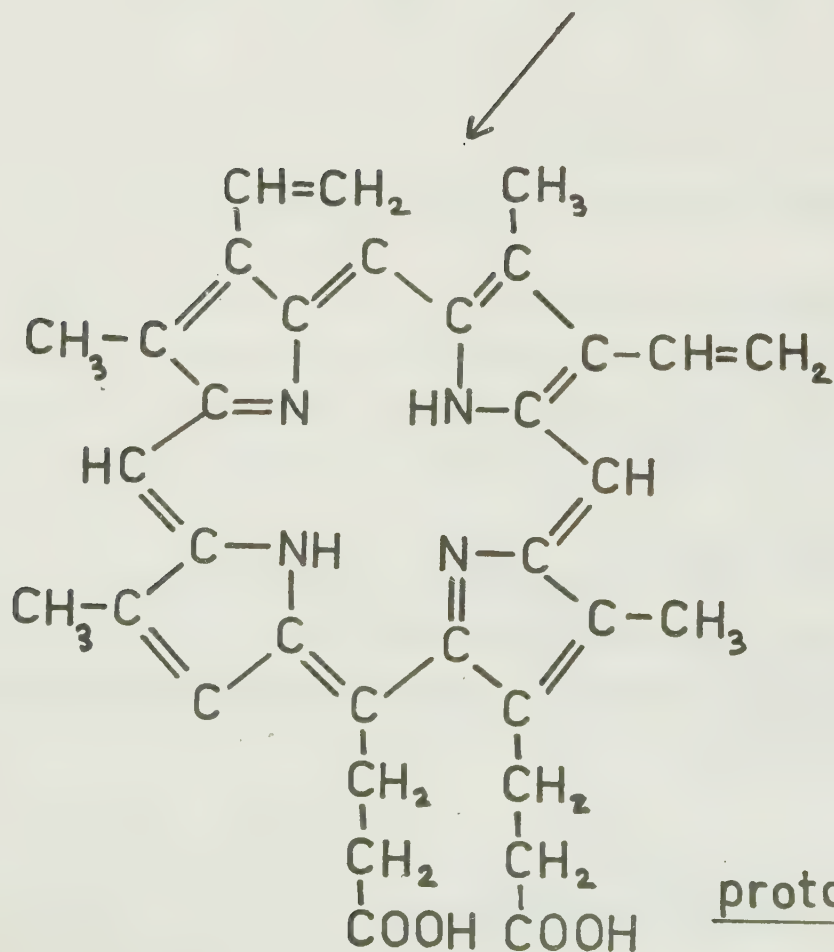
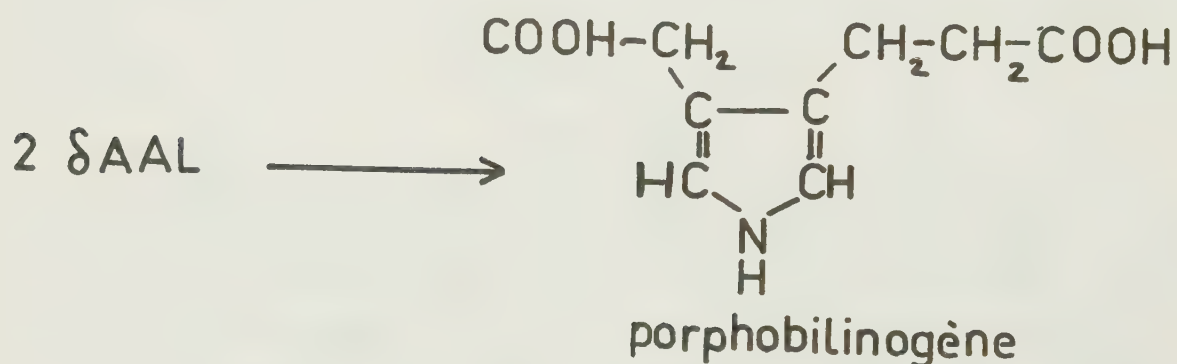
Le $\delta \text{ AAL}$ ainsi formé se dégraderait ensuite en succinyl-coenzyme A selon le schéma suivant :



succinyl coenzyme A

C'est par condensation de deux molécules de δ AAL sous l'action de "l'acide δ -aminolévulinique déshydrase", que se forme la porphobilinogène, précurseur des porphyrines (substances formant le plus souvent des complexes avec un ion métallique bivalent, ces complexes étant généralement liés à des protéines et l'ensemble fonctionnant fréquemment comme une enzyme).

L'ensemble de ces réactions a pu être schématisé ainsi (4, 5, 6, 7, 8) :

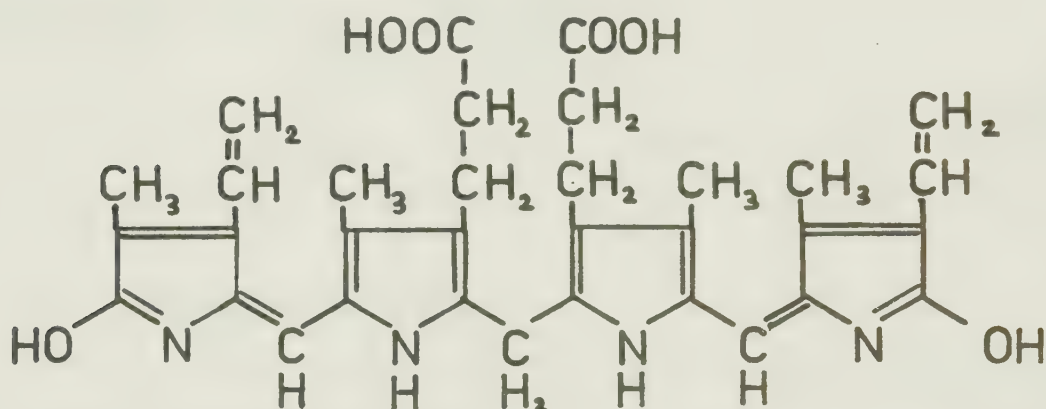


protoporphyrine IX

Le δ AAL apparaît donc comme le précurseur de nombreuses substances telles que : hémoglobine, hématine, myoglobine, hémiglobine, cytochromes, peroxydases, catalases et chlorophylles par exemple (9).

Le δ AAL est aussi le précurseur de la vitamine B₁₂ (10, 11, 12) ou cyanocobalamine.

De même, il a été démontré récemment (13) que le δ AAL se retrouvait incorporé intégralement dans la bilirubine :



(produit de dégradation de l'hémoglobine et d'autres composés hémiques dans le système réticulo-endothélial), ainsi que dans ses produits de dégradation : bilirubinoïdes et substances apparentées.

Signalons encore le dosage de δ -AAL dans les urines (14) qui renseigne précocement et fidèlement sur l'absorption du plomb par un sujet quelconque. Des taux supérieurs à 13-20 mg/l (correspondant à une plomburie de 150-200 μ g/l) indiquent une menace d'intoxication.

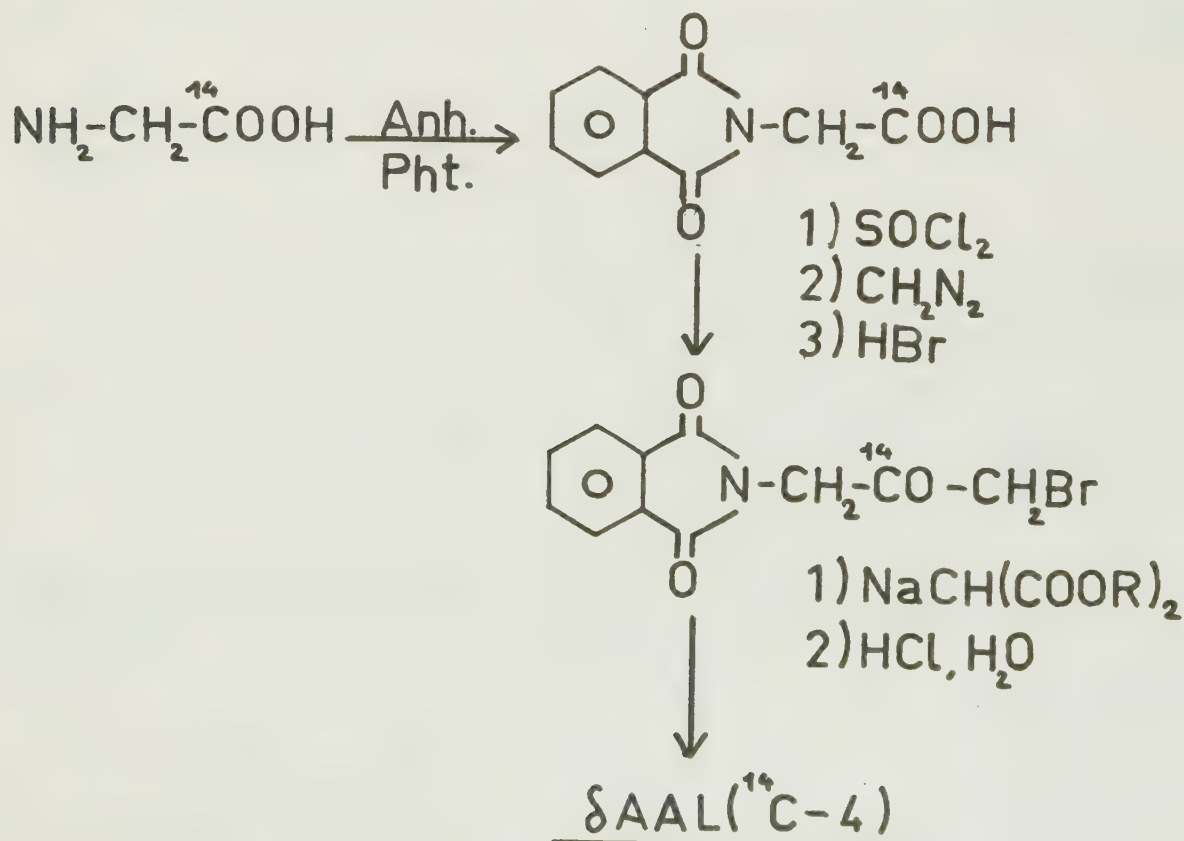
Ce très rapide aperçu montre toute l'importance du δ AAL pour le chercheur, en particulier sous forme de δ AAL (¹⁴C ou ³H) qui a permis d'obtenir une grande partie des résultats précédemment cités.

Différentes synthèses de δ AAL marqué au carbone 14 en position 4 ou 5 ont été réalisées. Nous en donnons un bref aperçu ci-dessous.

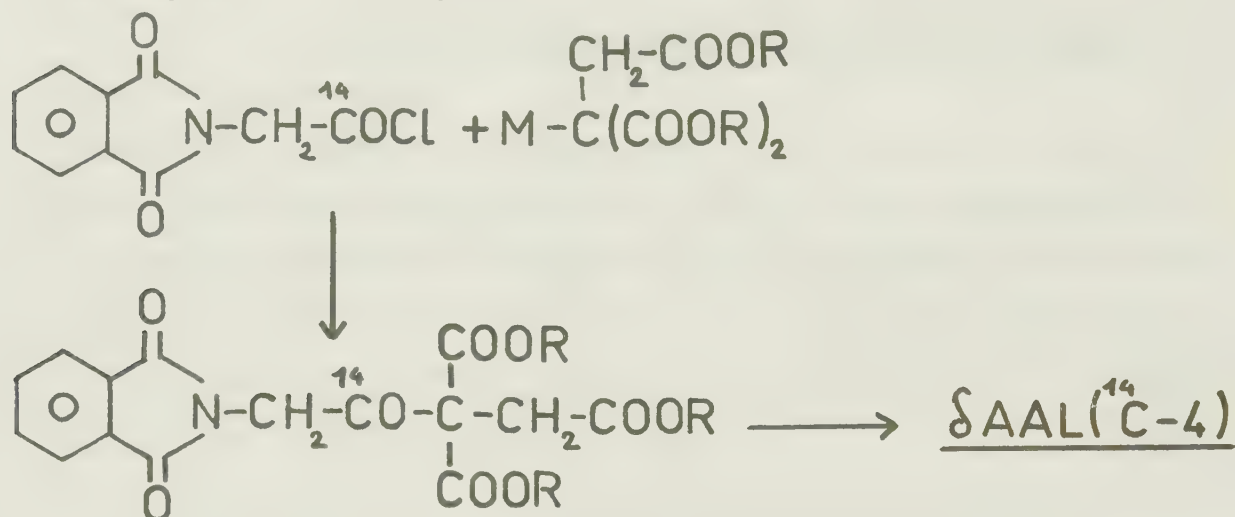
II - Synthèses existantes de δ -AAL (^{14}C -4) ou (^{14}C -5)

1 - Le δ -AAL (^{14}C -5) a été préparé par SHEMIN (15) avec un rendement global de 20 % et une faible activité spécifique. Par condensation de l'éthoxymagnésien malonate d'éthyle (^{14}C -2) sur le chlorure de β -carbométhoxypropionyle, on obtient, après hydrolyse, l'acide β -céto-adipique (^{14}C -2) qui conduit après nitrosation et réduction au δ -AAL (^{14}C -5).

2 - PICHAT et HERBERT ont synthétisé le δ -AAL (^{14}C) (16) à partir de glycine (^{14}C) par l'intermédiaire de phtalylglycine puis de bromo-1 phtalimido-3 propanone que l'on condense sur le dérivé du malonate de t-butyle. Par hydrolyse, on obtient δ -AAL (^{14}C -5) (à partir de glycine ^{14}C -2) ou δ -AAL (^{14}C -4) (à partir de glycine ^{14}C -1) selon le schéma global suivant :

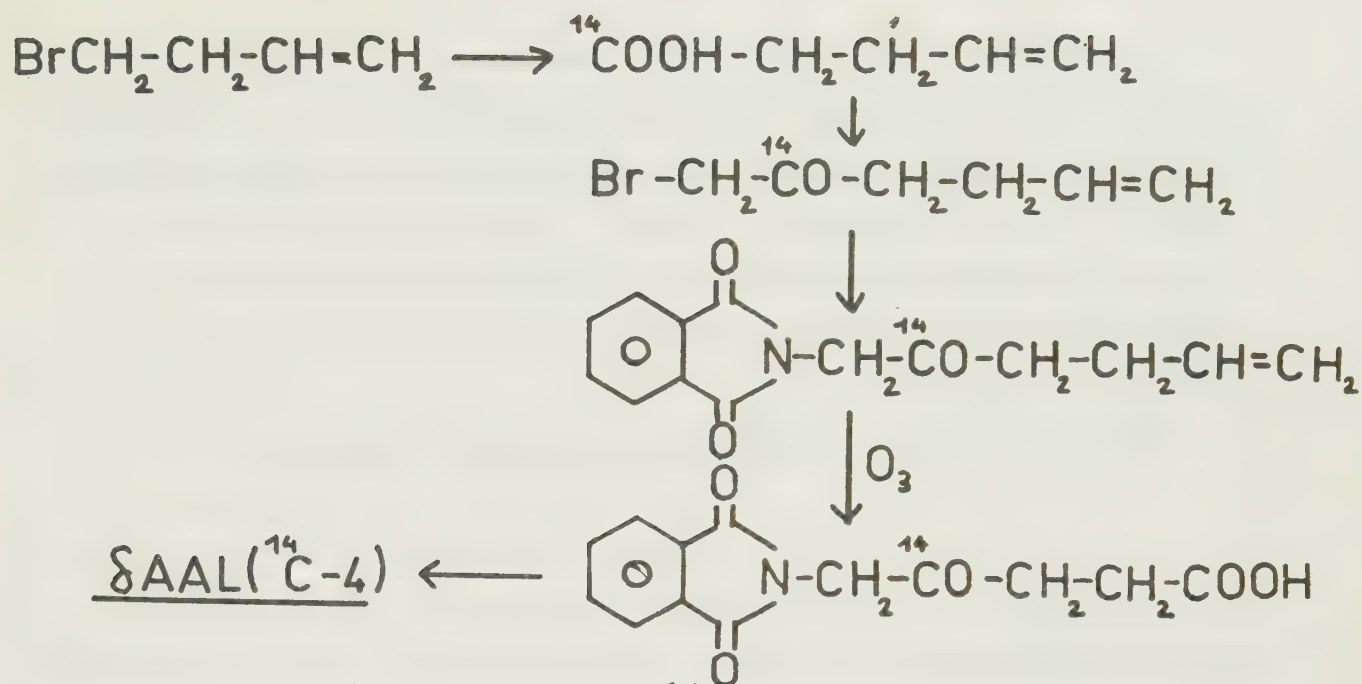


3 - Dans la même publication, les auteurs signalent l'obtention du δ -AAL(^{14}C -4) avec un très faible rendement par condensation du chlorure de phtalylglycine sur le dérivé sodé ou sur l'éthoxymagnésien de l'éthane-tricarboxylate-1,1,2 d'éthyle, de t-Butyle ou de tétrahydropyranyle.

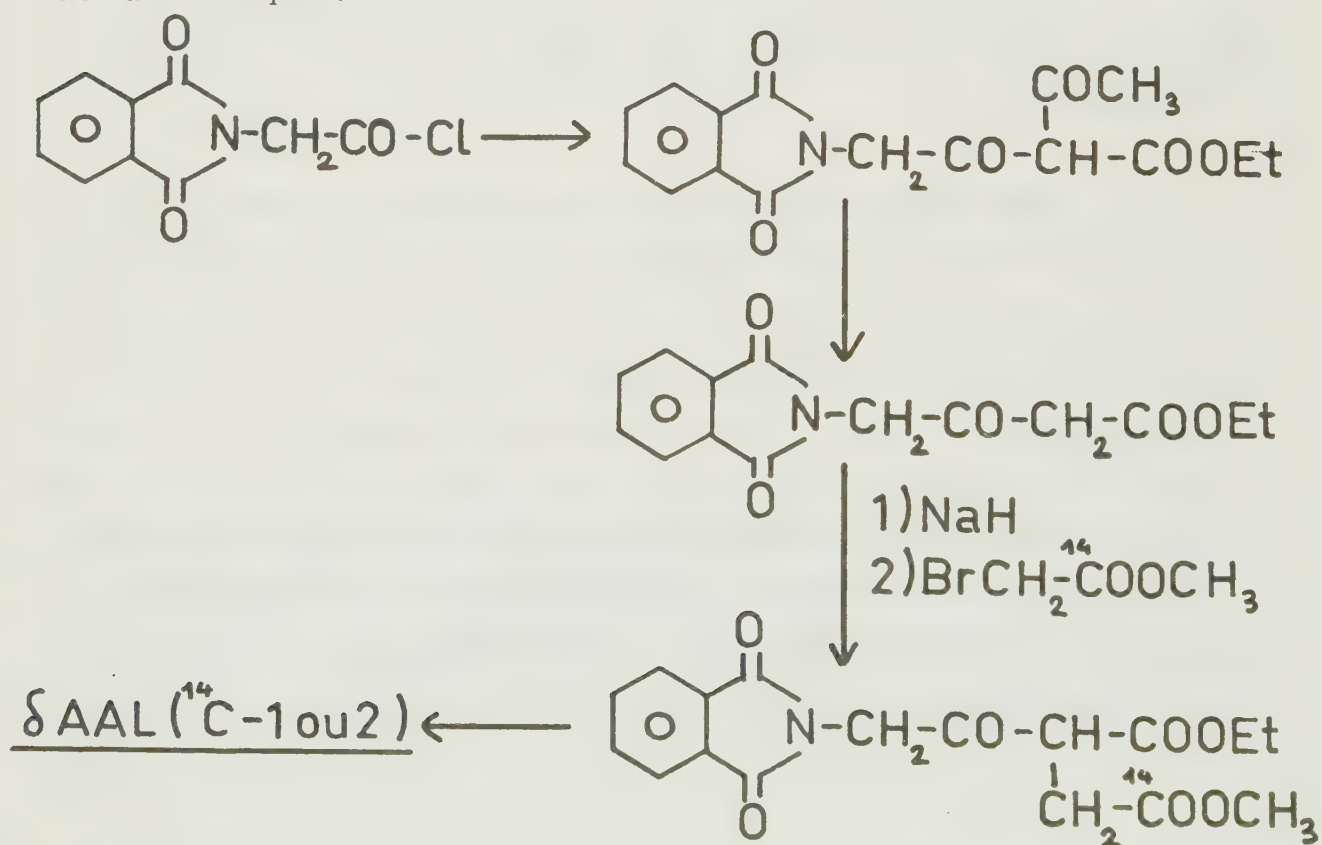


4 - Une méthode peu intéressante en synthèse active (17) conduit au δ -AAL(^{14}C -5) par action du diazométhane(^{14}C) sur le monochlorure monoester éthylique de l'acide butanedioïque-1,4. L'obtention de diazométhane marqué est peu aisée, les rendements sont faibles et un excès de diazométhane marqué est nécessaire.

5 - PICHAT, LOHEAC et HERBERT (18) ont réalisé en 1966 une synthèse de δ -AAL(^{14}C -4) par l'intermédiaire de l'acide allylacétique(^{14}C -1), formé par carbonatation du magnésien dérivé du bromo-1 butène-3. Cet acide est alors transformé en chloro-1 hexène-5 one-2(^{14}C -2) que l'on condense sur le phtalimide de potassium. L'ozonisation suivie d'hydrolyse oxydante et d'hydrolyse chlorhydrique fournit le δ -AAL(^{14}C -4) avec un rendement global de 30 % et une activité spécifique de 32 mCi/mM.



6 - $\delta\text{-AAL}({}^{14}\text{C-1})$ ou $\delta\text{-AAL}({}^{14}\text{C-2})$ sont obtenus à partir d'acétate de sodium (${}^{14}\text{C-1}$) ou (${}^{14}\text{C-2}$) (19), par condensation du bromoacétate (${}^{14}\text{C}$) de méthyle sur le dérivé sodé du phthalimidoacétyl acétate d'éthyle suivie d'une hydrolyse chlorhydrique. Le rendement est de 55 % par rapport à l'acétate de départ.



Telles sont les principales synthèses dont les chimistes organiciens disposent à ce jour pour obtenir le δ -AAL (^{14}C) marqué en diverses positions. Pour comprendre la nécessité d'étudier de nouvelles voies de synthèse de δ -AAL (^{14}C) il est bon de rappeler quelques caractéristiques de la synthèse des molécules marquées, qui se distingue assez nettement de la synthèse organique classique.

III - Particularités de la synthèse des molécules marquées au ^{14}C

Obtenu dans les réacteurs par irradiation neutronique de nitrure d'aluminium selon le type de réaction $^{14}\text{N} (n, p) ^{14}\text{C}$, le carbonate de baryum $\text{Ba } ^*\text{CO}_3(^{14}\text{C})$ est la seule matière première dont on dispose pour introduire un carbone radioactif dans une molécule, d'où la nécessité de trouver des voies originales de synthèse. De plus, $\text{Ba } ^*\text{CO}_3(^{14}\text{C})$ demeure d'un coût élevé. Il en résulte diverses conséquences :

1 - Le nombre d'étapes faisant intervenir des composés marqués doit être le plus petit possible, chaque étape devant avoir un rendement maximum.

2 - Les premiers essais sont réalisés "à blanc", c'est-à-dire sur des composés non marqués. Lorsque les meilleures conditions expérimentales sont déterminées, souvent après de multiples essais, on effectue des essais dits "traceurs" qui mettent en jeu de faibles activités (quelques millicuries).

3 - Les essais traceurs donnent une idée précise du rendement radioactif et chimique par les techniques qui seront décrites plus loin, sans qu'il soit nécessaire de purifier ou d'isoler le produit final.

4 - Ce n'est que lorsque les essais traceurs donnent entière satisfaction que l'on réalise la synthèse "active" en utilisant un produit marqué de départ possédant une activité totale allant de 150 à 300 mCi environ.

5 - La dilution importante de l'activité dans l'organisme fait que les biologistes ont besoin de composés ayant une très haute activité spécifique exprimée en millicuries par millimole de produit marqué. Le carbonate de baryum atteint fréquemment une richesse isotopique de 90 °/o correspondant à une activité spécifique de 55 mCi/mM.

6 - Lorsqu'on travaille sur des molécules à haute activité spécifique, il suffit de quelques millimoles pour avoir une forte activité. On manipule généralement de faibles quantités, d'où trois conséquences :

- de nombreuses manipulations classiques ne peuvent être réalisées par les méthodes habituelles et souvent d'importantes modifications sont nécessaires pour les appliquer,
- l'utilisation de la "rampe à vide" est absolument nécessaire. Cet appareillage permet le transfert d'un point à un autre de produits liquides ou gazeux en phase vapeur,
- il est indispensable d'utiliser des méthodes chromatographiques pour purifier et isoler les produits marqués obtenus.

7 - La très grande résolution des méthodes chromatographiques de purification et d'isolement des produits marqués met souvent en évidence des impuretés non détectables par les méthodes classiques. Or les molécules marquées sont commercialisées avec une grande pureté chimique et radiochimique. Il en résulte des purifications souvent délicates et toujours très poussées, ainsi que des contrôles très stricts. Ajoutons que la pureté d'une molécule marquée doit tenir compte de l'autodécomposition des corps radioactifs.

Le principal responsable de la mauvaise conservation des molécules marquées est le mode de décomposition, dit "externe", dû à l'interaction directe du rayonnement β avec les molécules du composé. C'est "l'autoradiolyse" qui, pour δ -A A L (^{14}C) atteint 10 °/° par an. Le mode de décomposition dit "interne" (décroissance isotopique normale) est moins important car la période de décroissance du carbone 14 est de 5 800 années, l'azote $^{14}_7\text{N}$ étant alors régénéré.

CHAPITRE I

I - Méthodes chromatographiques de purification

Certaines de ces méthodes couramment utilisées dans le Service des Molécules Marquées, n'ont pas été applicables à notre cas pour la purification ou le contrôle de produits radioactifs. Nous ne ferons que les mentionner :

- purification par chromatographie d'adsorption
- purification par chromatographie de partage
- purification par chromatographie gazeuse préparative.

Dans notre travail, nous avons plus spécialement utilisé les techniques suivantes :

1 - Purification par chromatographie papier préparative

On utilise du papier préparatif Whatman n° 3 (lavé) ou Schleicher and Schull 2316 (lavé). Le produit, en solution concentrée, est étalé le long d'une ligne parallèle au bord supérieur de la feuille à l'aide d'une pipette spéciale. Après développement par le solvant choisi, la feuille est bien

séchée et on en réalise une autoradiographie (film Kodak Kodirex). La partie intéressante ainsi repérée, est découpée et éluee, généralement à l'eau. On arrive ainsi à séparer 70 mg de produit par feuille de papier (60 cm x 50 cm).

2 - Purification par chromatographie plaque préparative

On utilise des plaques préparatives (20 cm x 40 cm) finies de Gel de Silice F₂₅₄ (n° 5733/0010 - Merck). Le produit en solution concentrée est étalé à l'aide d'un étaleur automatique "Rodder-Streaker". Après développement par le solvant choisi et séchage de la plaque, le produit est localisé par autoradiographie. La portion de plaque contenant le produit est alors grattée au moyen d'un appareil aspirateur qui permet de recueillir les particules grattées directement dans un fritté où l'extraction du produit est possible. On élue au méthanol jusqu'à ce que toute l'activité soit extraite. L'éluat est porté à sec et repris par CCl₄ ou l'éther éthylique. Après filtration sur "Millipore" des dernières particules de gel de silice, on obtient le produit pur en solution. On peut ainsi purifier environ 70 mg de produit radioactif par plaque.

3 - Purification par chromatographie sur résines échangeuses d'ions

Pour le cas précis de la purification de δ -AAL (¹⁴C), on utilise :

- Résine

On emploie la résine Dowex 5OW X12 (200-400 Mesh) à laquelle on fait subir les traitements habituels de lavage dans un appareillage automatique à programme.

- Colonne

La purification est plus efficace avec une colonne composée de segments dont le diamètre va en diminuant de haut en bas (voir schéma n° 1).

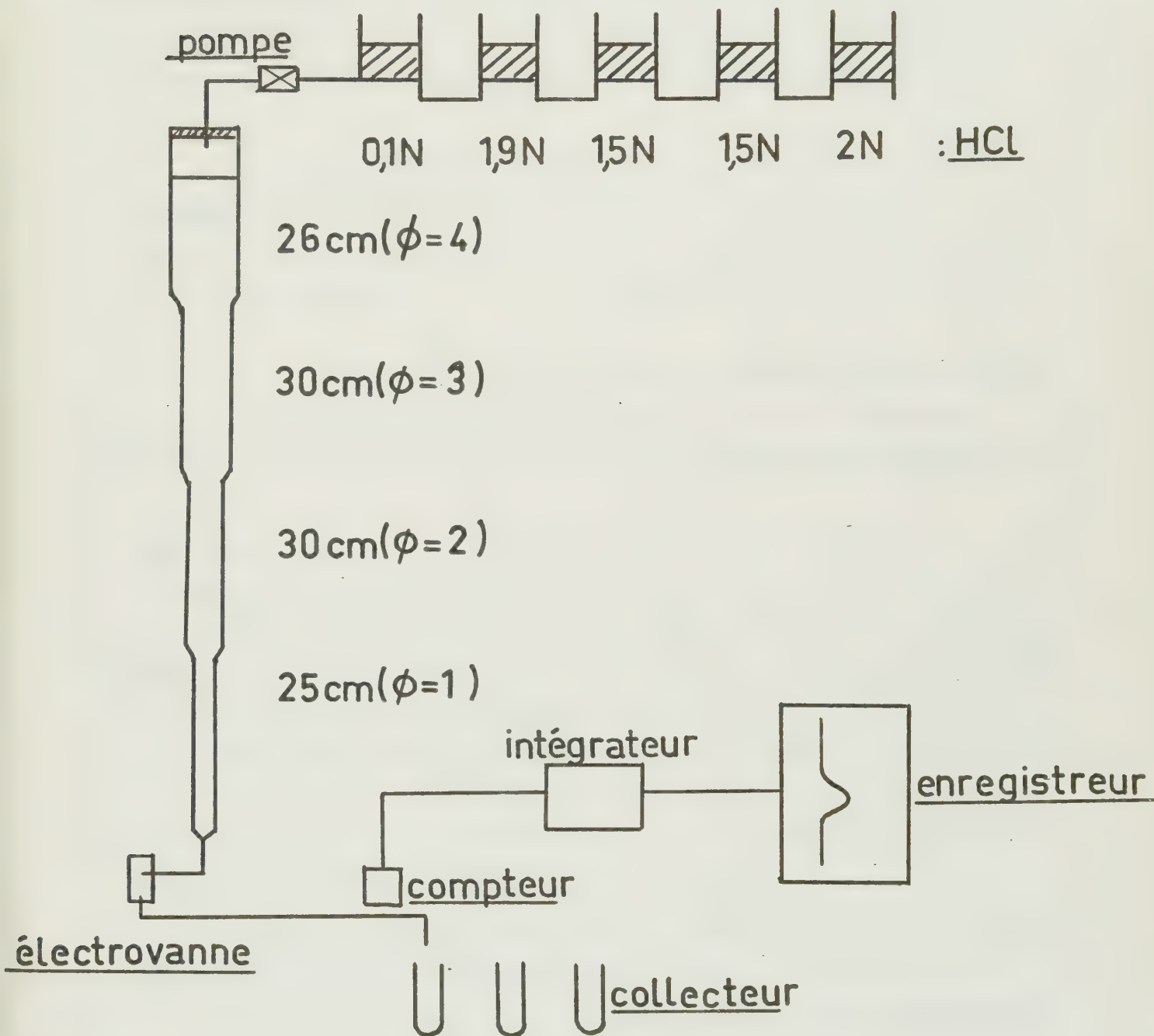


Schéma n° 1

- Elution

Elution à gradient (18) dans 5 pots de 600 ml contenant respectivement de l'acide chlorhydrique 0,1 ; 1,9 ; 1,5 ; 1,5 ; 2 N. Cette élution donne un palier de la courbe d'élution à la concentration de 1,5 N ce qui permet une purification de δ -AAL lorsqu'il est souillé de glycine.

Débit : 10 ml/30mn.

- Détection

L'activité est enregistrée à la sortie de la colonne et traduite sur un enregistreur par une courbe d'activité (par l'intermédiaire d'une chaîne de comptage logarithmique).

II - Méthodes de contrôle de pureté

1 - Pureté radiochimique

La pureté radiochimique est contrôlée au moyen de chromatographies sur papier réalisées dans au minimum trois solvants appelés solvants de contrôle. Sur chaque feuille, on dépose deux taches de produit radioactif supposé pur, l'activité de ces deux taches étant respectivement 1 μ Ci et 0,01 μ Ci. Après migration du produit dans les solvants de contrôle, on sèche les feuilles puis on localise les taches radioactives :

- par autoradiographie

Le film Kodak Kodirex est laissé durant 20 heures au contact du papier. Dans ces conditions, il est possible de voir la tache de 0,01 μ Ci ; le simple examen du film permet donc de voir s'il y a plus de 1 % d'impuretés radioactives.

- par radiochromatographie

Le chromatogramme est déplacé lentement à vitesse constante devant un compteur proportionnel sans fenêtre. La radioactivité est enregistrée à deux sensibilités différentes, la sensibilité la plus grande permettant de détecter environ 1 % d'impuretés (soit 0,01 μCi). Il suffit de mesurer la surface des pics de l'enregistrement sur les deux sensibilités, pour connaître quantitativement le pourcentage d'impuretés radioactives.

Le produit final est considéré comme pur s'il contient moins de 1 % d'impuretés radioactives.

2 - Pureté chimique

Des méthodes telles que les spectrométries infra-rouge , RMN et de masse ne sont pratiquement pas utilisées pour les produits radioactifs finaux. Plus couramment nous avons utilisé les techniques suivantes :

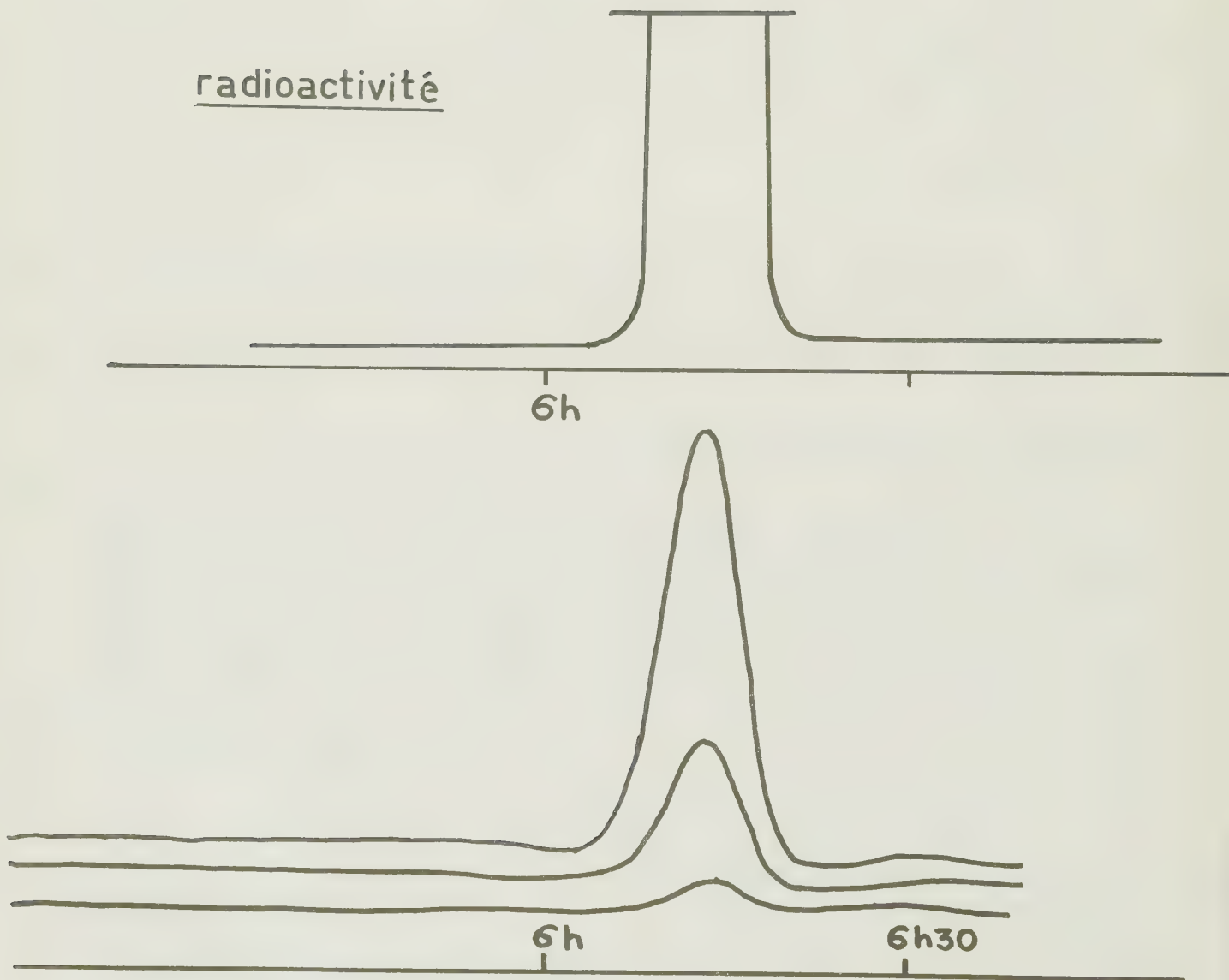
a) Spectrophotométrie U.V. et visible

Cette méthode s'applique aux produits ayant un spectre d'absorption. Généralement la comparaison de la courbe du produit en solution dans un solvant et de la courbe d'un produit inactif témoin est un bon critère de pureté. Connaissant le coefficient d'absorption du témoin, on peut calculer la quantité du produit en solution. Cette méthode qui permet à la fois le contrôle de la pureté et le dosage du produit radioactif n'est pas destructive. On peut donc récupérer le produit.

b) Autoanalyseur d'acides aminés

Il s'agit d'une méthode de choix pour le contrôle et le dosage des acides aminés en particulier.

$\delta AAL(C)$: passage sur autoanalyseur



Nous avons utilisé l'appareil JEOL modèle JLC.3 BC.2.

Le composé à tester est introduit à une dilution connue sur une colonne Dowex éluee selon un programme affiché, par des tampons acides (pH 3,35 - 4,25 - 5,25). Les différents acides aminés, après séparation sur la colonne, passent dans un bac de réaction où ils réagissent avec la ninhydrine, puis dans un détecteur de radioactivité. L'absorption due à la coloration résultante est mesurée grâce à un spectrophotomètre puis enregistrée (absorption à 2 longueurs d'ondes différentes et sur 3 sensibilités). L'appareil permet donc :

- l'identification d'un produit selon son temps de sortie
- la détection de toute impureté aminée
- la détection de toute impureté radioactive (enregistrement à 2 sensibilités de la radioactivité en sortie de colonne.)
- le dosage du produit marqué par comparaison des pics d'absorption du produit et d'un témoin inactif injecté en quantité connue et dans les mêmes conditions que le produit marqué.

c) Vérification du poids

Lorsque le dosage a permis de connaître la quantité du composé marqué, une simple pesée permet de vérifier qu'on n'a pas un excès de poids dû à une impureté non décelée.

3 - Mesure de l'activité. Activité spécifique

Rappelons que l'activité est exprimée en Curies(Ci) ou en millicuries (mCi). La définition du Curie est la suivante :

Le Curie correspond à une quantité de matière fournissant exactement : $3,7 \times 10^{10}$ désintégrations par seconde (International Commission of Radiological Units and Measurements).

Les comptages d'activité sont effectués par les méthodes suivantes :

a) Par scintillation

Le composé est dissous dans un liquide scintillant et les scintillations engendrées par le rayonnement β sont transformées par un photomultiplicateur en impulsions électriques qui sont comptées.

b) Par Bremsstrahlung ou rayonnement de freinage

Le rayonnement de freinage des particules β (radiations électromagnétiques produites dans la matière, et d'énergie inférieure à celle des particules incidentes) produit dans un scintillateur solide (cristal de NaI) des photons qui sont vus par un photomultiplicateur. Cette méthode peu sensible est d'un usage très appréciable car elle ne nécessite pas des dilutions multiples pour les activités importantes sur lesquelles nous travaillons, et le produit actif est facilement récupéré en totalité.

- Activité spécifique

Nous venons de voir brièvement comment sont déterminés dans de nombreux cas l'activité et le poids d'un composé marqué. L'activité spécifique (A.S.) est alors obtenue en faisant le rapport de l'activité (exprimée en millicuries) au nombre de millimoles de produit : elle s'exprime en millicuries par millimole, soit mCi/mM . Elle atteint

couramment 55 mCi.mM^{-1} , lorsque la molécule est marquée sur un seul atome de carbone.

Compte tenu de ces particularités et exigences de la synthèse des molécules marquées, notre travail a consisté en premier lieu à mettre au point de nouvelles synthèses de δ -AAL(^{14}C) par des voies plus simples ou conduisant à des rendements plus élevés que les synthèses déjà existantes. Certaines des synthèses ainsi étudiées se sont révélées susceptibles d'être généralisées, ce qui nous a permis d'obtenir d'autres produits marqués au carbone 14, tels que l'adrénalone (^{14}C), l'homosérine (^{14}C) ou la méthionine (^{14}C) par exemple. Il nous a ainsi été possible de décrire des méthodes générales de synthèse, susceptibles de développement, telles que celles qui conduisent à l'obtention d'acides cétoniques et de cétones aminées.

CHAPITRE II

EMPLOI DU MALONATE DE TMS A LA SYNTHÈSE DE δ -AAL(^{14}C)

Nous avons utilisé le schéma réactionnel représenté sur le tableau n° 2. Il s'agit en fait d'une reprise et d'une amélioration de la synthèse décrite par PICHAT et HERBERT (16). L'obtention de δ -AAL(^{14}C) par cette voie donnait un produit fortement souillé par de la glycine (^{14}C); la purification de δ -AAL(^{14}C) était alors délicate. Nous avons apporté deux modifications principales :

- utilisation des dérivés silylés
- utilisation des dérivés lithiés

Dans tout notre travail, nous avons fréquemment eu recours aux dérivés silylés et aux dérivés lithiés car ils présentent certains avantages qu'il nous semble opportun d'exposer brièvement.

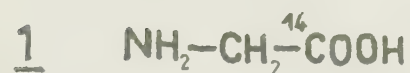
I - Intérêt des dérivés silylés (115)

a) Préparation simple

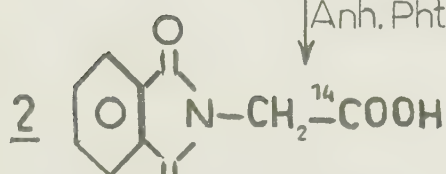
Nous avons principalement utilisé le groupement triméthylsilyle $-\text{Si}(\text{CH}_3)_3$, pour protéger par exemple une fonction amine ou acide (sous forme d'ester triméthylsilyle).

TABLEAU n° 2

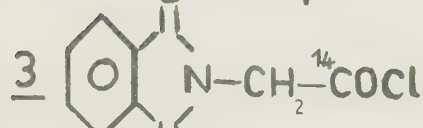
Synthèse de δ AAL(^{14} C-4) utilisant le malonate de T.M.S.



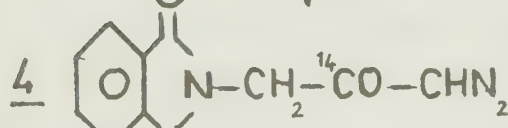
↓ Anh. Pht.



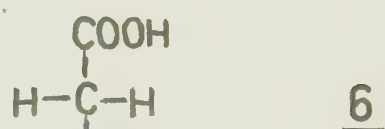
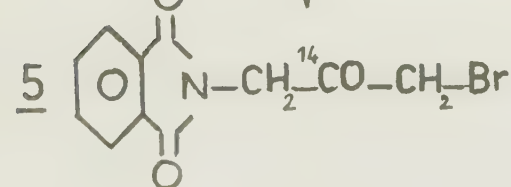
↓ SOCl_2



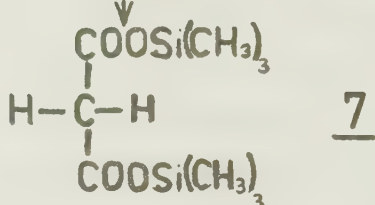
↓ CHN_2



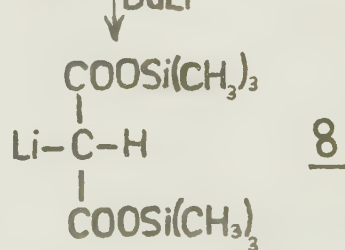
↓ HBr



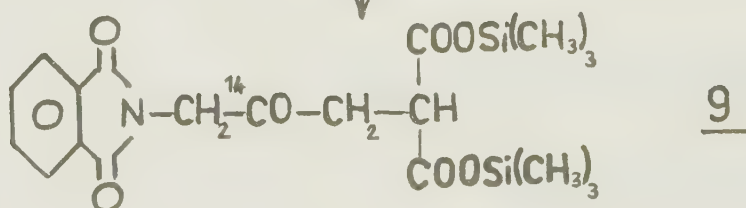
↓ BSA



↓ BuLi



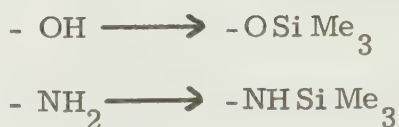
+



↓ 1) H_2O
2) HCl

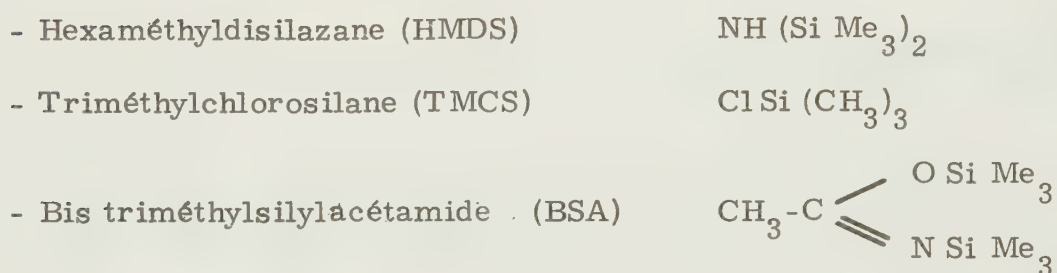
δ AAL(^{14} C-4)

Les agents silylants qui permettent d'obtenir des dérivés O-TMS ou NH-TMS par action directe sur les fonctions -NH_2 et -OH selon le schéma :



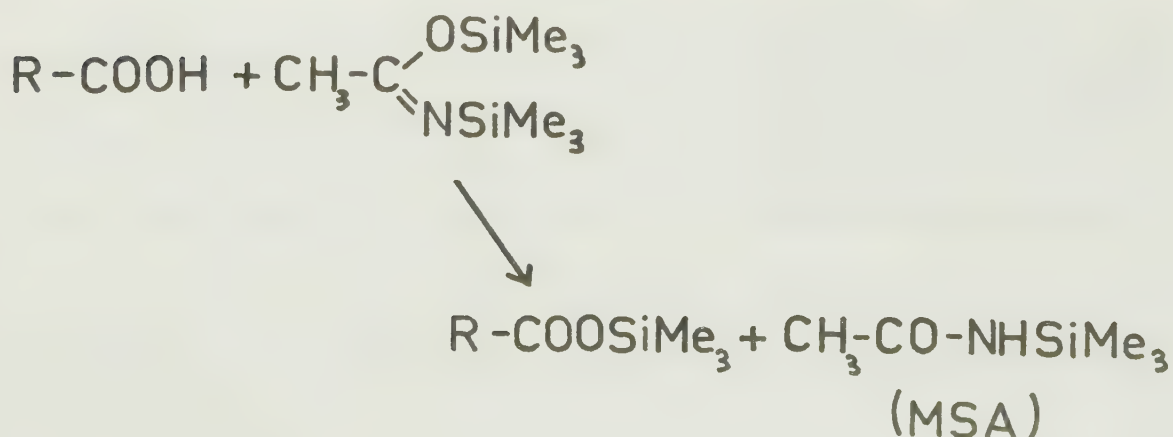
sont très nombreux (115).

Parmi eux, nous nous sommes servis fréquemment de :



Les silylations par le HMDS ou le TMCS se font dans la pyridine anhydre, à température ambiante ou à reflux. Dans les mêmes conditions, les silylations par le mélange HMDS-TMCS (50 - 50) sont possibles. Le BSA, beaucoup plus réactif que les composés précédents, silyle par exemple les acides organiques à température ambiante, dans l'éther anhydre, en quelques minutes.

Le schéma de la réaction est alors le suivant :



Le monosilylacétamide formé (MSA) ne distillant sous vide que vers 80°C , il y a alors risque de dégradation thermique de l'ester silylé, ce qui peut constituer un inconvénient à l'emploi du BSA.

b) Stabilité vis-à-vis des organo lithiens

Cette condition était indispensable dans notre cas. A basse température (-60°C) les esters triméthylsilylés ne réagissent pas avec le n-BuLi.

c) Hydrolyse simple

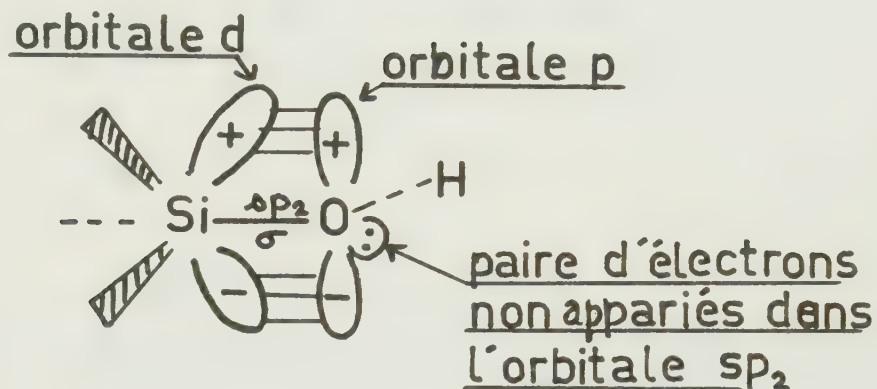
Il suffit de traces d'humidité pour hydrolyser les dérivés silylés. L'hydrolyse a donc lieu dans des conditions particulièrement douces, ne risquant pas d'altérer le produit réactionnel. En contre-partie, il faut manipuler dans des conditions rigoureusement anhydres : atmosphère d'azote sec (boîte à gants), sous courant d'azote sec et dans des solvants anhydres.

d) Solubilité élevée dans les solvants aprotiques dipolaires tels que l'éther éthylique et le DME

Signalons quelques particularités physiques du groupement triméthylsilyle :

- encombrement stérique très important (supérieur à celui du groupe tertibutoxy) (116, 117).
- au point de vue effet électronique (115, 118, 119), le groupe $-\text{Si}(\text{CH}_3)_3$ a un effet inductif donneur + I, mais il peut avoir un effet électronique

de résonance attracteur - T dû à la présence d'orbitales libres dans l'atome de silicium selon :



Il est donc difficile de prévoir l'influence électronique d'un tel groupement.

II - Intérêt des dérivés organo lithiés (120)

a) Facilité de préparation

Dans notre cas, l'opération consistant à remplacer un hydrogène mobile par un atome de lithium, est facilement réalisée par action du phényllithium ou du butyllithium. Ces deux dérivés lithiés étant très réactifs, les réactions de métallation se font à très basses températures. Il s'agit alors d'un équilibre :

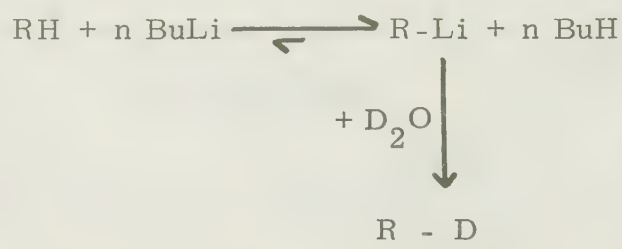


fortement déplacé vers la droite en général. On peut évaluer ce déplacement par une "deutérolyse du lithien".

- Deutérolyse du lithien

Soit un composé RH dont l'hydrogène mobile donne en RMN un signal nettement visible. On réalise la lithiation de ce composé puis on

hydrolyse l'organolithien formé par l'eau lourde D_2O :



On réalise à nouveau le spectre RMN du produit obtenu. Pour une lithiation donnant 100 % de R - D, le signal RMN correspondant à l'hydrogène mobile disparaît. Si le rendement de la lithiation n'est pas de 100 %, l'intégration du spectre RMN permet de calculer le rendement de lithiation.

Cette méthode est non destructive.

b) Réactivité

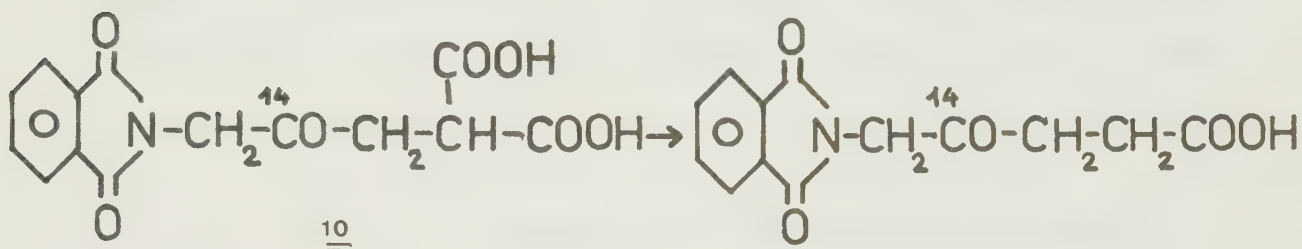
Dans l'ensemble, les organolithiens ainsi obtenus par action du phényllithium ou du butyllithium sont plus réactifs que leurs homologues sodés. ⁽¹²⁰⁾ Peu stables, ils sont préparés à basse température peu de temps avant leur utilisation.

III - Essais inactifs (Tableau n° 3) p 51

Pour tous ces essais, la présence de δ -AAL est mise en évidence par chromatographie sur couche mince de gel de silice dans le solvant : Butanol - Acide acétique - Eau (50 - 25 - 25) (tache jaune à la ninhydrine). La quantité de δ -AAL est déterminée par dosage sur auto-analyseur d'acides aminés. On a essayé de voir comment les divers facteurs expérimentaux influaient sur le rendement en δ -AAL. Dans ce but, nous avons fait les essais suivants :

a) Essai de décarboxylation avant hydrolyse acide (essais 1 et 2)

Après hydrolyse par l'eau des groupements silylés, on porte à sec et on chauffe 10 mn à 45°C pour décarboxyler l'acide malonique intermédiaire 10 .



Deux essais ont été séparés en deux parties égales. La première moitié subit directement l'hydrolyse acide. La seconde moitié est décarboxylée puis subit l'hydrolyse acide. Les rendements sont équivalents. La décarboxylation n'augmente donc pas le rendement.

b) Influence des proportions de réactifs

On utilise un excès de malonate silylé 7 par rapport à l'agent lithiant et un excès d'organolithien 8 par rapport à la bromocétone 5 .

Le nombre de millimoles utilisé est indiqué dans les tableaux n° 3 et 4. Si on respecte l'ordre de grandeur des excès indiqué ci-dessous, on constate que le rapport des nombres de millimoles utilisé a peu d'influence sur le rendement. On obtient de bons résultats avec les quantités de réactifs suivantes :

- Cétone bromée 5 : 1 mM
- Organo lithien 8 : 3 à 4 mM
- Ester silylé 7 : 6 à 8 mM

c) Influence du temps de réaction pour la condensation

On a étudié les variations du rendement en δ -AAL pour des temps de réaction allant de 4 à 24 heures pour la condensation entre la phtalimidobromopropanone 5 et le lithien du malonate de TMS 8. On constate que la réaction est presque complète après 4 heures d'agitation à température ambiante. Dans le mode opératoire final, on a toutefois retenu des temps de réaction légèrement plus longs pour parfaire le rendement de cette condensation.

d) Influence du solvant sur la condensation (120 à 126)

La nature du solvant utilisé a une grande influence sur la formation des organolithiens ainsi que sur leur condensation. Nous avons tenu compte de trois facteurs caractéristiques du solvant :

- pouvoir dissociant
- pouvoir ionisant
- pouvoir solvatant

Un solvant ionisant ionise une molécule polaire en augmentant sa polarité. Une molécule d'organolithien RLi sera représentée par la formule $R^{-\delta} Li^{+\delta}$. L'apparition des charges partielles $-\delta$ et $+\delta$ pourra augmenter la réactivité de la molécule lors d'une attaque électrophile ou nucléophile.

Quant au solvant dissociant, il dissocie plus ou moins la molécule en deux ions indépendants. Dans un solvant peu dissociant, la molécule d'organolithien sera représentée par la formule R^{-}, Li^{+} alors que dans un solvant très dissociant, on pourra écrire $R^{-} + Li^{+}$.

Enfin, un ion peut être plus ou moins solvaté par le solvant selon le pouvoir de solvation de ce dernier. Notons que dans un solvant solvatant déterminé, un ion sera d'autant plus solvaté que sa charge ionique est plus concentrée, donc que son rayon ionique est plus petit. Ainsi, l'ion Li^+ sera beaucoup plus fortement solvaté que l'ion organique $\text{R} - \text{CO} - \text{CH}_2^+$.

Pour notre réaction de condensation du type :



le rendement devrait être amélioré par une ionisation, voire même une dissociation des réactifs (créant des ions très réactifs) et peut-être par une solvation des cations ainsi formés. Nous nous sommes limités à l'emploi des solvants suivants :

- Ether éthylique (essais 1 à 4)

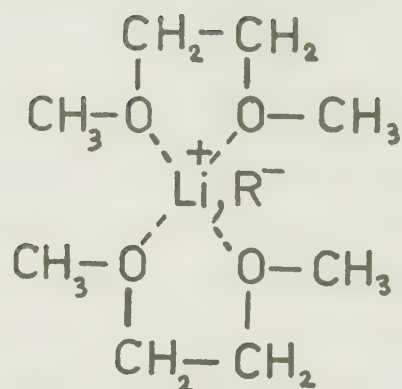
Ce solvant aprotique dipolaire, peu acide et peu dissociant, ne favorise pas la réaction.

- Tétrahydrofurane (essai 9)

Ce solvant, peu dissociant et non solvatant, conduit à des résultats identiques à ceux obtenus dans l'éther éthylique.

- Diméthoxy-1,2 éthane (DME) (essais 5 et 6)

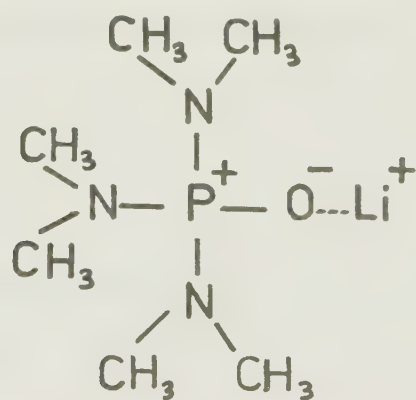
Ce solvant aprotique dipolaire est peu dissociant, mais solvate fortement les cations selon le schéma :



Il favorise la réaction.

- HMPT (hexa méthylphosphorotriamide) (essais 7 et 8)

Ce solvant aprotique dipolaire est très dissociant et solvate fortement les cations, ce que l'on peut schématiser ainsi :



Il favorise aussi la réaction.

La théorie nous fournissait quelques indications mais il était impossible de prévoir exactement l'effet de ces différents solvants, car nous n'avions aucune donnée sur l'état (d'ionisation, de solvation, etc..) du complexe de transition de la réaction. Les expériences nous ont montré que les rendements les plus élevés étaient obtenus avec le DME et le HMPT (utilisé à 8 % dans l'éther). Dans ces deux derniers solvants, les rendements étaient équivalents mais on obtenait un produit final beaucoup plus propre, donc plus facile à purifier, avec le DME. C'est donc finalement ce solvant que nous avons adopté systématiquement pour la suite de nos travaux.

Les résultats de tous les essais dont il vient d'être question sont résumés dans le tableau n° 3.

IV - Essais traceurs (Tableau n° 4) p50

Ces essais ont été conduits chacun à partir de 1 mCi (0,02 mM) de phthalimidobromopropanone 5 à haute activité spécifique (50 mCi/mM). Nous avons utilisé le mode opératoire général décrit ci-dessous. Le rendement n'a été que de 20 % (essai n° 1, tableau n° 4), donc bien inférieur à ce que les essais inactifs laissaient espérer, ce qui aurait pu être dû à la pureté de la phthalimidopropanone 5 : en effet, dans les essais inactifs nous utilisons un produit recristallisé, alors que dans les essais traceurs, nous avons un corps de synthèse brut. Nous avons alors essayé les trois opérations suivantes :

- sublimation de la bromocétone 5
- lavage de la bromocétone 5 par NaHCO_3
- reprecipitation de la bromocétone 5 par l'hexane

Par les deux premières opérations, on récupère peu de bromocétone 5 ; ces deux procédés ne sont pas applicables. En utilisant le composé purifié par reprécipitation, on a toujours obtenu un faible rendement en δ -AAL (essais 4 et 5).

D'après ces résultats, la pureté de la bromocétone 5 ne semblait donc pas être en cause. Nous nous sommes alors demandé si la différence d'ordre de grandeur dans les quantités chimiques utilisées n'entraînait pas ces rendements insuffisants. En effet, nous avons utilisé :

	Bromocétone <u>5</u>	Phényllithium	Malonate
-pour les essais inactifs	1 mM	2 à 3 mM	6 à 8 mM
-pour les essais traceurs	0,02 mM	0,04 mM	0,08 mM

De plus, avec des quantités de quelques dizaines de micromoles, il est sans doute plus difficile d'avoir des solvants suffisamment anhydres.

Effectivement, dans les essais 6 et 7, en utilisant des quantités de réactifs voisines de celles des essais inactifs, nous avons obtenu des rendements en δ -AAL de 75 % par rapport à la glycine 1.

V - Synthèse active de δ -AAL (^{14}C -4)

a) 100 mCi de glycine (^{14}C -1) (1,21 mM) ont été utilisés et nous ont conduit à 88 mCi de phtalimidobromopropanone 5 radioactivement pure. Une partie de cette bromocétone 5 a été utilisée pour les essais traceurs. Finalement, l'essai actif a été réalisé avec 74 mCi (1,6 mM) de la cétone bromée 5. Lors de la purification de δ -AAL (^{14}C -4) obtenu, l'enregistrement de la radioactivité à la sortie de la colonne comporte deux pics radioactifs assez proches l'un de l'autre. Le pic A représente 16 mCi, le pic B 22 mCi. Le pic A correspond au δ -AAL (^{14}C -4) obtenu ainsi chimiquement et radiochimiquement pur avec un rendement de 18 %.

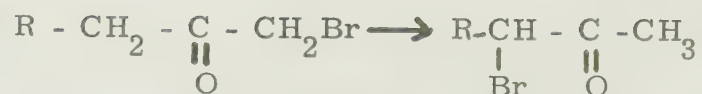
On constate que le rendement est bien inférieur à celui des essais traceurs. On obtient simultanément un produit radioactif en quantité très importante. Ce produit B (pic B de l'enregistrement) n'avait pas été mis en évidence dans les essais traceurs car son R_f et celui du δ -AAL sont pratiquement identiques dans le solvant utilisé dans les essais traceurs pour les chromatographies sur couche mince de gel de silice, alors que sur papier, leurs R_f sont nettement différents.

b) Identification de l'impureté radioactive B

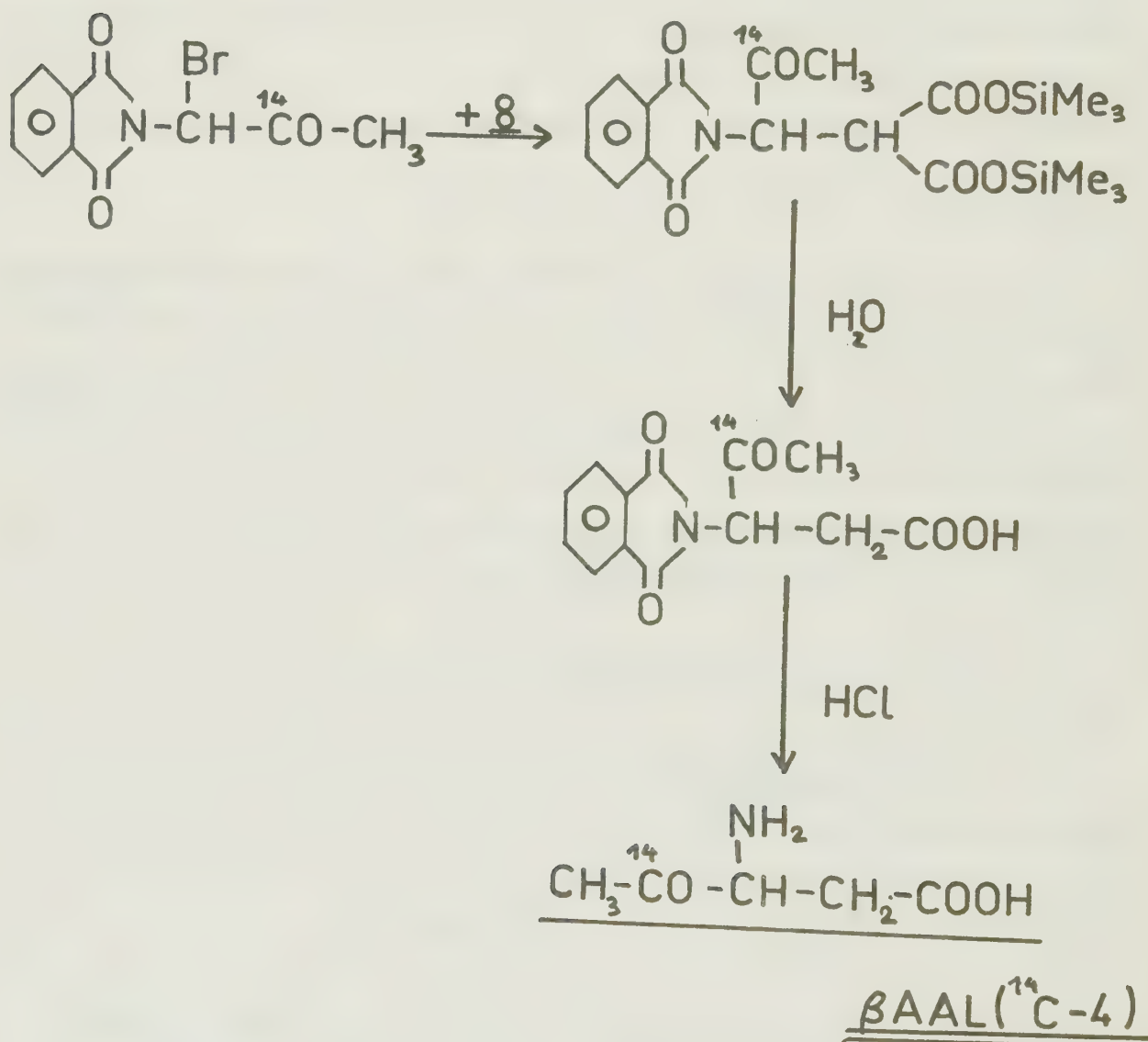
Il était indispensable de connaître la nature de ce produit B. Dans la suite de notre travail, pour la synthèse utilisant le trioxaadamantane, nous avons aussi mis en évidence une impureté active qui s'est avérée être identique à ce produit B (voir page 167).

Or ces deux synthèses font intervenir une cétone α -bromée. Il était alors logique de penser à une isomérisation des α -bromocétones,

du type :

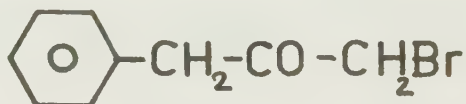


auquel cas la suite des manipulations devait nous conduire à l'acide β -aminolévulique : : β -AAL (^{14}C) selon :



Nous avons prouvé que le produit B est bien l'acide β -amino-lévulique (^{14}C -4). Pour cela, nous avons synthétisé β -AAL inactif, selon les méthodes connues (21, 22, 23). En comparant les spectres RMN, les chromatographies sur papier et les passages sur auto-analyseur d'acides de ces deux composés, nous avons prouvé que nous avons synthétisé un mélange de δ -AAL(^{14}C -4) et de β -AAL(^{14}C -4).

Notre hypothèse de l'isomérisation de la phthalimidobromopropanone 5 a donc été confirmée. De tels cas d'isomérisation de cétones α -bromées sont déjà décrits dans la littérature (24, 25) pour des cétones bromées de ce type. Le mécanisme de cette isomérisation n'est pas connu avec certitude. On peut penser au passage par une forme énoisable comme décrit dans le tableau n° 5. Ce mécanisme se produit en présence d'un excès de HBr. On sait en particulier (24, 25) que pour la phényl -1 bromo-3 propanone-2 :



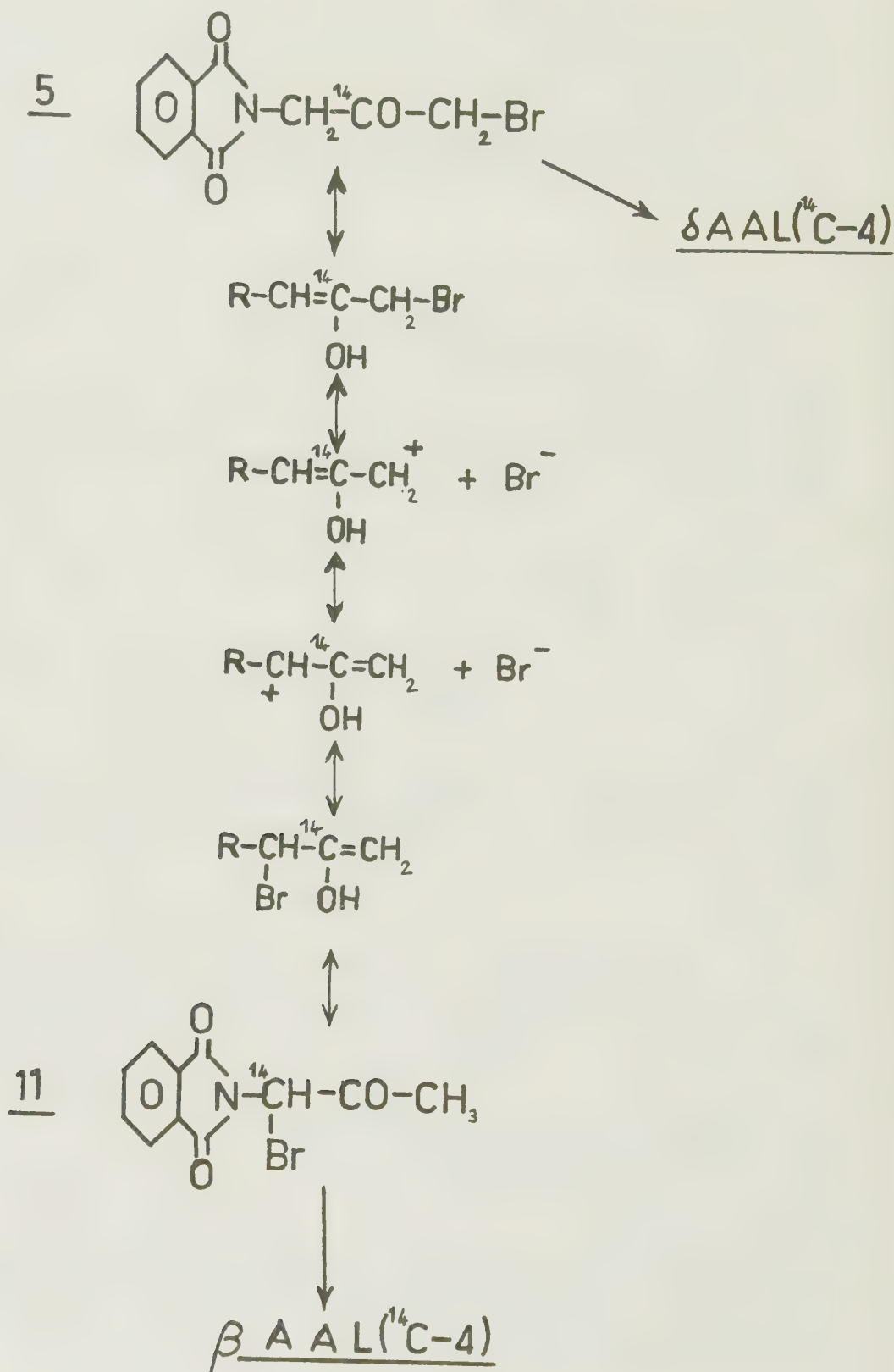
en solution étherée et en présence d'un léger excès de HBr, l'isomérisation se fait très rapidement à température ambiante, beaucoup plus lentement à froid.

En tenant compte de ces faits, nous avons synthétisé la phthalimido bromopropanone à 0°C avec une quantité stoechiométrique de HBr en solution dans l'éther.

VI - Nouveaux essais traceurs

Ce mode de synthèse a été appliqué dans un essai traceur de synthèse de δ -AAL (^{14}C -4) effectué à partir de 1,65 mCi (2,35 mM) de la bromocétone 5 ainsi obtenue.

Isomérisation de la Phtalimido-4 bromo-1propanone-2(¹⁴C-2)



Les chromatographies sur papier et l'auto-analyseur d'acides ont prouvé qu'il ne s'était pas formé de β -AAL et que le rendement en δ -AAL (^{14}C -4) était voisin de 35 %.

Dans la suite de notre travail, nous avons constaté que les résultats étaient bien supérieurs en remplaçant le phényllithium par le butyllithium. Le dosage de ces agents lithiants indique que le phényllithium dont nous disposions (en solution dans benzène-éther : 7-3) contenait pratiquement autant de lithine que de phényllithium. Par contre, le butyllithium contient très peu de lithine (0,2 mM pour 2,2 mM de BuLi en moyenne). Nous pensons que ce fait explique la différence des rendements obtenus, plutôt qu'une différence de réactivité entre ces deux agents de lithiation.

Les essais traceurs dans lesquels le phényllithium est remplacé par le butyllithium (dans l'hexane à 2,2 mM/ml) ont permis d'obtenir des rendements de l'ordre de 70 % de δ -AAL (^{14}C -4) par rapport à la glycine (^{14}C -1) de départ.

VII - Conclusion

Compte tenu des deux dernières modifications citées, nous avons obtenu des rendements élevés en δ -AAL (^{14}C -4) par rapport à la glycine (^{14}C -1). Le δ -AAL (^{14}C -4) synthétisé n'étant pas souillé de glycine est facilement purifiable et peut être obtenu avec une pureté chimique et radiochimique élevées. Cette méthode représente une amélioration très sensible de la synthèse utilisant le sel de sodium du malonate d'éthyle ou de t-butyle (16).

De plus, dans des conditions identiques, on peut obtenir δ -AAL (^{14}C -5) à partir de glycine (^{14}C -2).

Si, lors de la préparation de la phtalimido-3 bromo-1 propa-
none-2 5, aucune précaution n'est prise pour éviter un excès de HBr ou
une élévation de température, cette bromocétone s'isomérise partiellement
et entraîne la formation ultérieure de β -AAL (^{14}C), au détriment du rende-
ment en δ -AAL.

PARTIE EXPERIMENTALE

I - Dosage de l'agent lithiant

Le phényllithium et le butyllithium (FLUKA), en solution respectivement dans le benzène et dans l'hexane, ont été dosés avant emploi par la méthode de GILMAN et CARTLEDGE (20).

a) Dans un premier essai, on place 2 ml de la solution de phényllithium dans 10 ml d'éther. On hydrolyse à l'eau et on titre par l'acide chlorhydrique normal en présence de phénolphtaléine.

b) Dans un deuxième essai, dans 10 ml d'éther anhydre, on ajoute 2 ml de CCl_4 puis, goutte à goutte, sous agitation, 2 ml de la solution de phényllithium. On laisse reposer 2 minutes. On a ainsi formé un complexe entre le phényllithium et CCl_4 , complexe qui est stable vis-à-vis de l'eau. On ajoute donc de l'eau et on titre par l'acide chlorhydrique normal (principalement la lithine initialement présente dans la solution).

On connaît ainsi la teneur réelle en phényllithium.

Pour le dosage du butyllithium, on opère de même en remplaçant CCl_4 par du bromure d'éthylène.

II - Mode opératoire général

A - Phtalimido bromo propanone 5 (16)

- Phtalylglycine 2

La glycine (¹⁴C) 1 est reprise par environ 15 ml d'eau dans un ballon de 50 ml et lyophilisée une nuit sous vide secondaire. A 2 mM de 1, on ajoute 3 mM (450 mg) d'anhydride phtalique fraîchement sublimé (à 60°C sous vide secondaire). On chauffe au bain métallique à 185°C durant 15 minutes puis on laisse refroidir à l'abri de l'humidité.

- Chlorure de phtalylglycine 3

A la phtalylglycine 2 obtenue on ajoute 5 ml de chlorure de thionyle fraîchement distillé (sur quinoléine et huile de lin) et on chauffe 1 heure à 80°C en l'absence d'humidité. On évapore le chlorure de thionyle après refroidissement. On porte bien à sec, et le résidu est sublimé à 80°C sous vide secondaire pour donner le chlorure de phtalylglycine 3.

- Diazo-1 phtalimido-3 propanone-2 4

Le chlorure 3 ainsi sublimé est repris en boîte à gants par de l'éther sec. Sous atmosphère d'azote, à 0°C, on ajoute à cette solution 7 mM de diazométhane (fraîchement préparé) en solution éthérée. On laisse revenir à température ambiante et on agite une heure pour obtenir une solution de 4.

- Bromo-1 phtalimido-3 propanone-2 5

L'éther est chassé à l'évaporateur rotatif, on reprend 4 par 30 ml d'acide acétique. On ajoute 7 ml d'acide bromhydrique à 48 %.

fraîchement distillé. On agite une nuit à température ambiante. On chasse HBr et on reprend deux fois à l'eau pour chasser les dernières traces de HBr.

On obtient ainsi la phtalimido bromo propanone 5 avec un rendement de 80 % par rapport à la glycine de départ.

B - Malonate de triméthylsilyle 7

Sous courant d'azote sec, on dissout 13 g (125 mM) d'acide malonique 6 sec dans 125 ml d'éther déperoxydé et anhydre. On ajoute 20 g (250 mM) de pyridine anhydre.

Cette solution, refroidie à 0°C, est agitée mécaniquement. On laisse alors tomber goutte à goutte 27 g (250 mM) de TMCS fraîchement distillé (60°C sous courant d'azote sec). On agite deux heures à 0°C puis, en boîte à gants, on ajoute 125 ml d'hexane. On filtre sur fritté n° 4. Le précipité est lavé à l'hexane. En l'absence d'humidité, le filtrat est évaporé sous vide et le résidu est distillé sous vide.

$$\text{P.E. (12 mm)} = 99-100^{\circ}\text{C} \quad (138)$$

$$n_{\text{D}}^{22} = 1,4158$$

Spectre RMN (sans solvant)

$$\delta = 0 \text{ ppm (s - 18 H - SiMe}_3\text{)}, \quad \delta = 3,0 \text{ ppm (s - 2H - CH}_2\text{)}$$

C - Phtalimido-3 céto-2 propylmalonate de triméthylsilyle 9

992 mg (4 mM) de malonate de TMS 7 sont placés dans 10 ml d'éther sec et déperoxydé. On refroidit à - 60°C (mélange carboglace-acétone). Sous courant d'azote, à l'aide d'une seringue piquée au travers

d'un manchon de caoutchouc "suba seal" fixé sur une des tubulures du ballon, on injecte 2,4 mM de phényllithium. On laisse réagir 5 minutes à - 60°C. Puis on plonge le ballon dans la glace et on ajoute goutte à goutte 1 mM de phthalimido bromo propanone 5 en solution dans 150 ml de DME. On laisse la température remonter et on agite une nuit à température ambiante.



A la solution trouble et blanche de 9 ainsi obtenue, on ajoute 10 ml d'eau. Le pH de la couche aqueuse est voisin de 4. L'ensemble est porté à sec à l'évaporateur rotatif, puis repris par le mélange HCl-CH₃ COOH (50 - 50) et chauffé 24 heures à 100°C. On porte à nouveau à sec, on reprend deux fois à l'eau puis on filtre l'insoluble sur "Millipore" afin d'obtenir une solution aqueuse de $\delta\text{-AAL} (^{14}\text{C})$.

III - Nouveau mode opératoire adopté

Cette façon de procéder évite l'isomérisation de la cétone α -bromée 5 et ne conduit pas à un mélange de $\delta\text{-AAL} (^{14}\text{C-4})$ et $\beta\text{-AAL} (^{14}\text{C-4})$.

a) Bromo-1 phthalimido-3 propanone-2 5

La phthalimidodiazocétone 4 en solution dans l'éther est refroidie à 0°C. On ajoute alors goutte à goutte une solution titrée de HBr dans l'éther anhydre (quantités stoechiométriques). On agite 15 minutes à 0°C puis on porte à sec. De cette façon, on n'a pas constaté d'isomérisation de la bromo cétone 5.

Essais n°	Bromocétone 5 initiale	Bromocétone 5 traitée par	Bromocétone 5 mise en jeu	Phényl lithium	Malonate de TMS 7	δ -AAL(¹⁴ C) Rdt/1
1	1 mCi 0,02 mM	-	1 mCi 0,02 mM	0,1 mM	0,4 mM	20 %
2	1 mCi 0,02 mM	sublimation	0,3 mCi 6x10 ⁻³ mM	0,1 mM	0,3 mM	10 %
3	1 mCi 0,02 mM	NaHCO ₃ (1°/°)	0,3 mCi 6x10 ⁻³ mM	0,1 mM	0,3 mM	10 %
4	1 mCi 0,02 mM	reprécipitée	1 mCi 0,02 mM	0,04 mM	0,08 mM	2 %
5	1 mCi 0,02 mM	restée en solution	1 mCi 0,02 mM	0,04 mM	0,08 mM	2 %
6'	1 mCi 0,02 mM	-	1 mCi 0,02 mM	2 mM	4 mM	75 %
7	1 mCi 0,02 mM	-	1 mCi 0,02 mM	2 mM	4 mM	75 %

TABLEAU n° 4 - Essais "traceurs" de condensation de la bromo-1 phthalimido-3 propanone-2 5 sur le lithien du malonate de triméthylsilyle 8. Hydrolyse en δ -AAL ¹⁴C.

Essais n°	Malonate 7	ϕ Li	Bromocétone 5	Décarboxylation	Temps de réaction	Solvant	δ -AAL ¹⁴ C Rdt/1
1	3 mM	2 mM	2 mM	a) avec b) sans	4 h 4 h	Ether Ether	20 % 20 %
2	3 mM	2 mM	1 mM	a) avec b) sans	4 h 4 h	Ether Ether	25 % 25 %
3	3 mM	2 mM	1 mM	sans	24 h	Ether	25 %
4	4 mM	3 mM	1 mM	sans	4 h	Ether	31 %
5	4 mM	3 mM	1 mM	sans	6 h	DME	54 %
6	6 mM	4 mM	1 mM	sans	6 h	DME	52 %
7	4 mM	3 mM	1 mM	sans	6 h	HMPT 8 %	52 %
8	6 mM	4 mM	1 mM	sans	6 h	HMPT 8 % (extrait avant hy- drolyse acide)	50 %
9	3 mM	2 mM	1 mM	sans	24 h	THF	30 %

TABLEAU n° 3 - Essais inactifs de condensation de la bromo-1 phtalimido-3 propanone-2 5 sur le lithien du malonate de triméthylsilyle 8 . Hydrolyse de l'intermédiaire en δ -AAL.

b) Remplacement du phényllithium par le butyllithium

Les conditions de la lithiation et de la condensation sur la cétone bromée sont identiques à celles du premier mode opératoire utilisé.

IV - Résultats

1 - Essais inactifs (conduits selon le premier mode opératoire)

Le tableau n° 3 rend compte des résultats des essais inactifs et montre l'influence des conditions expérimentales sur le rendement. Le rôle du solvant apparaît nettement.

2 - Essais traceurs

Ils sont conduits selon le premier mode opératoire. Les résultats figurent dans le tableau n° 4. Les tentatives de purification de la cétone bromée 5 ont été les suivantes.

a) Sublimation de la bromo cétone 5

1 mCi (0,02 mM) de 5 est sublimé durant 2 heures sous vide secondaire à 40°C. On sublime ainsi 0,3 mCi (0,006 mM). Cette sublimation ne peut donc pas être effectuée à cause de son faible rendement .

b) Lavage de la bromocétone 5 par NaHCO₃

1 mCi (0,02 mM) de bromocétone 5 est lavé par une solution aqueuse de NaHCO₃ à 1 % pour enlever d'éventuelles impuretés acides. Par extraction à l'éther, on obtient seulement 0,3 mCi de bromocétone 5 . Les deux-tiers du produit se sont donc dégradés. Un tel traitement est donc à exclure.

c) Reprécipitation de la bromocétone 5 par l'hexane

La bromocétone 5 est mise en solution dans le benzène et reprécipitée par l'hexane. La reprécipitation n'est pas totale. Les essais 4 et 5 sont réalisés respectivement sur 1 mCi de bromocétone 5 reprécipitée et sur 1 mCi de bromocétone 5 restée en solution. Les rendements sont identiques et faibles : la pureté de ce composé n'est donc pas responsable des faibles rendements en δ -AAL(^{14}C -4).

3 - Essai actif

100 mCi de glycine 1 (2, 21 mM - A.S. = 46,5 mCi/mM) traités selon le premier mode opératoire nous ont conduit à 88 mCi de phthalimido bromopropanone 5 radioactivement pure.

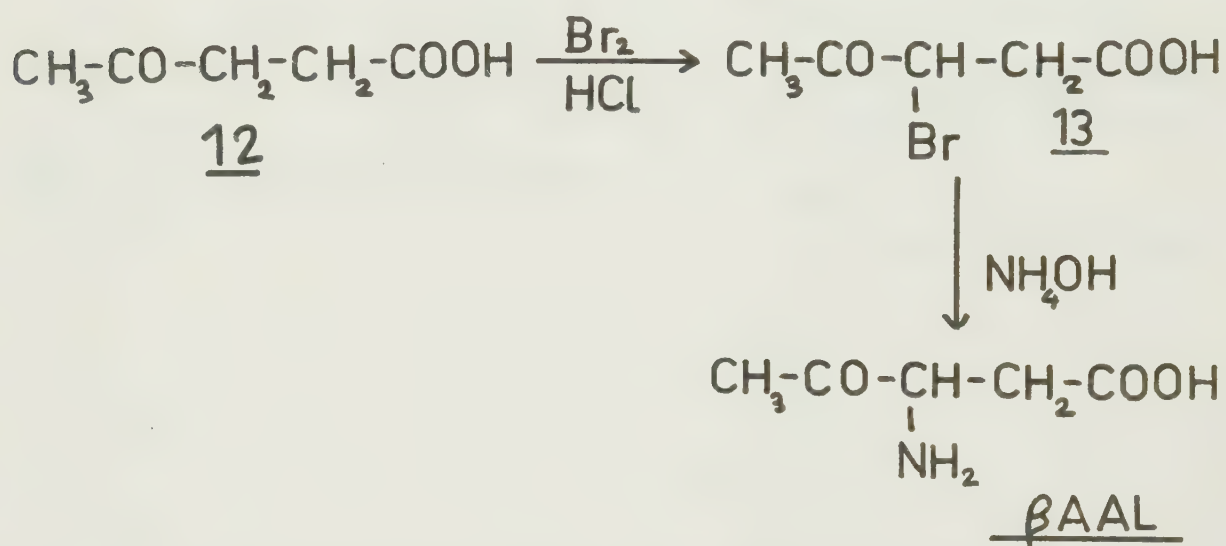
L'essai actif a été poursuivi avec 74 mCi de la cétone bromée 5 (1,6 mM), 4 mM de phényllithium et 8 mM de malonate de TMS 7. δ -AAL(^{14}C) formé a été purifié comme précédemment décrit (page 21) et contrôlé par passage sur auto-analyseur d'acides aminés et par chromatographies sur papier Whatman n° 1 dans les trois solvants suivants :

a) Butanol	75	b) t-Butanol	40	c) Méthanol	40
Acide acétique	15	Méthyléthylcétone	30	n-Butanol	30
Eau	10	Acide acétique	20	Benzène	20
		Eau	10	Eau	10

Ces contrôles montrent que les puretés chimiques et radiochimiques de δ -AAL sont toutes deux supérieures à 99 %. Le bilan en δ -AAL(^{14}C) de cette synthèse active s'établit à :

- δ -AAL(^{14}C -4)
- activité - 16 mCi - Rdt = 18 %.
 - activité spécifique - 46,5 mCi/mM
 - 0,344 mM

A côté de δ -AAL(^{14}C -4) nous avons obtenu 22 mCi d'un produit radioactif B, caractérisé comme étant du β -AAL(^{14}C -4) par comparaison avec du β -AAL témoin synthétisé (21, 22, 23) selon le schéma :



L'acide lévulinique 12 est dissous dans l'acide chlorhydrique concentré et traité par le brome à 0°C. L'acide dibromo-3,5-lévulinique formé simultanément est séparé par filtration. Quant à l'acide bromo-3 lévulinique 13, après extraction à l'éther, il est soumis à l'action de NH_3 (barbotage de NH_3 anhydre). Le β -AAL ainsi synthétisé est solubilisé dans l'eau et obtenu par évaporation du solvant. Nous l'avons utilisé sans autre purification.

Les résultats des analyses du β -AAL (^{14}C -4) de synthèse et du β -AAL témoin sont :

a) Auto-analyseur d'acides aminés

Les temps de rétention dans des conditions de passage identiques sont tous deux de 1 h 15 pour le β -AAL témoin et le produit B.

b) Spectre RMN (solvant : D₂O à 4,75 ppm)

Les deux composés ont le même spectre :

$\delta = 4,45$ ppm (t - J = 5,6 Hz - 1H - CH), $\delta = 3,22$ ppm (d - J = 5,6 Hz, 2H - CH₂), $\delta = 2,30$ ppm (s, 3H, CH₃).

c) Chromatographies sur papier Whatman n° 1

Les deux composés ont des R_f identiques dans les trois solvants précédemment cités :

- Solvant a	R _f = 0,54
- Solvant b	R _f = 0,23
- Solvant c	R _f = 0,60

De plus, les taches correspondant au β -AAL et au produit actif, sont révélées en violet à la ninhydrine.

4 - Nouveaux essais traceurs

a) Essai conduit selon le deuxième mode opératoire et utilisant le phényllithium

1,65 mCi (2,35 mM) de phtalimido bromo propanone 5 obtenue à 0°C dans l'éther par action d'une solution étherée de 2,5 mM de HBr,

sont traités par 7 mM d'organo lithien 8 obtenu par addition de 7 mM de phényllithium à 2,33 g (9,4 mM) de malonate de TMS 57. Les chromatographies sur papier et l'auto-analyseur d'acides aminés ont prouvé qu'il ne s'était pas formé de β -AAL. On obtient 0,7 mCi de δ -AAL (^{14}C -4), soit un rendement de 35 % par rapport à la glycine (^{14}C -1) de départ. Cet essai n'a pas été purifié.

b) Essai conduit selon le deuxième mode opératoire et utilisant le butyllithium

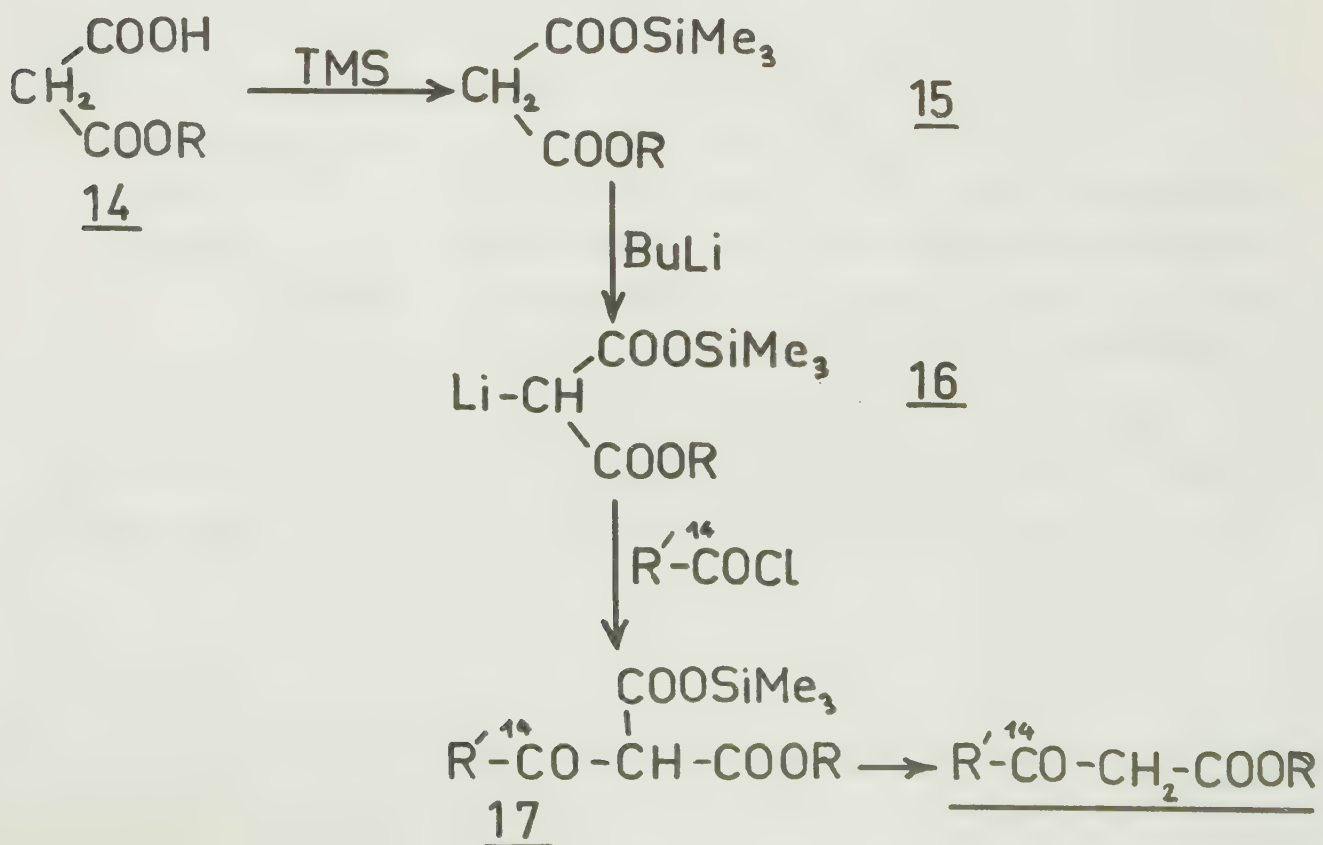
La seule modification par rapport à l'essai précédent est le remplacement du phényllithium par 7 mM de butyllithium. Dans ce cas, le rendement en δ -AAL (^{14}C -4) est de 70 % par rapport à la glycine de départ. Cet essai n'a pas été purifié.

CHAPITRE III

GENERALISATION DE L'EMPLOI DU MALONATE DE TMS A LA SYNTHESE D'ESTERS β -CETONIQUES ^{14}C A PARTIR D'ACIDES CARBOXYLIQUES ^{14}C

I - Généralités

L'acylation du malonate d'éthyle et de TMS 15 conduit aisément à la formation d'esters β -cétoniques selon un schéma dérivé de celui de la synthèse précédente : un groupement ester triméthylsilyle est remplacé par un groupement éthyle qui ne sera pas hydrolysé par l'eau.



Etant donné l'importance en synthèse organique des β -céto-esters, de nombreuses méthodes de synthèse ont déjà été décrites et peuvent être classées en deux groupes principaux (161) :

- Voie directe, consistant en l'acylation d'un ester au moyen d'un autre ester par catalyse basique (condensation de Claisen). On obtient dans ce cas tous les produits de condensation possibles (128).

- Voie indirecte : on part dans ce cas d'acétylacétate d'éthyle ou d'un ester malonique. Citons, par exemple, l'acylation du dérivé métallé de l'acétylacétate d'éthyle suivie d'une ammonolyse (129, 130), l'action d'un organo magnésien sur le cyanacétate d'éthyle (131), la carboéthoxylation par le carbonate d'éthyle des méthylcétones métallées au moyen d'éthylate ou d'amidure de sodium (132, 133).

Il existe plusieurs exemples de synthèse d'esters β -cétoniques (127) à partir d'esters maloniques en particulier l'action d'un composé organo-cadmien sur le chlorure d'acide du malonate d'éthyle (134), la décarboxylation thermique des acylmalonates diéthyliques (135), la décomposition thermique d'un acylmalonate d'éthyle et de tertibutyle (136), la décomposition thermique d'un acylmalonate d'éthyle et de tétrahydropyranyle (137), ou l'action des anhydrides mixtes carboxyliques-carboniques ou des imidazolides sur l'énolate magnésien du malonate acide d'éthyle (127).

La voie de synthèse que nous avons étudiée se classe dans le même groupe que ces deux dernières méthodes (136, 137), car nous effectuons une protection de la fonction carboxyle de l'acide malonique, puis une métallation suivie d'une acylation. Déjà, SCHMIDT et SCHWOCHAU (138) ont utilisé le malonate d'éthyle et de TMS (15 avec $R = C_2H_5$) pour synthétiser des esters β -cétoniques à partir d'anhydrides mixtes du type $R-CO-O-COOC_2H_5$. Nous avons vérifié qu'un dérivé lithié tel que 16 pouvait être condensé sur un chlorure d'acide pour donner diffé-

rents esters β -cétoniques. Cette méthode allie les avantages des dérivés lithiés et des dérivés silylés que nous avons rappelés dans le Chapitre II, en particulier une grande réactivité des chlorures d'acides vis-à-vis des organo-lithiens et une hydrolyse simple suivie d'une décarboxylation spontanée. Dans ces conditions, toutes les manipulations sont réalisées sans chauffage, ce qui évite les dégradations parfois observées dans les méthodes citées ci-dessus. Cette méthode nous paraît générale et bien adaptée à la synthèse active. Nous l'avons appliquée à deux chlorures d'acides.

La condensation de l'organolithien 16 ($R = C_2H_5$) sur le chlorure de benzoyle, nous conduit au benzoyl-2acétate d'éthyle 17 avec un rendement de 85 % (après purification) par rapport au chlorure d'acide de départ. La condensation du même organolithien 16 sur le chlorure de l'acide tri-O-benzoyle-3, 4, 6 anhydro-2, 5 allonique a bien eu lieu, comme le montrent les chromatographies sur plaque de gel de silice, mais il a été impossible de séparer le produit final par chromatographie préparative, celui-ci se dégradant sur la plaque. De plus, ce produit se dégrade très rapidement avec le temps. Il n'a donc pas pu être obtenu à l'état pur à cause de sa très grande instabilité.

PARTIE EXPERIMENTALE

I - Mode opératoire

1 - Monoester éthylique de l'acide malonique 14 (R = C₂H₅)

Le sel de potassium (EGA) correspondant à l'acide 14
(R = C₂H₅) a le spectre RMN suivant (réalisé dans D₂O).

D₂O à 5,25 ppm - δ = 4,65 ppm (qa - 2H - J = 7,1 Hz - CH₂),
 δ = 3,75 ppm (s - 2H - CH₂), δ = 1,71 ppm (t - 3H - J = 7,1 Hz, CH₃).

A 10 g (59 mM) du sel de potassium, on ajoute 70 ml (70 mM)
de HCl 1N à 0°C. Puis on extrait en continu à l'éther et on porte à sec.
Il reste un produit liquide caractérisé par son spectre RMN :

D₂O à 5,25 ppm - δ = 4,65 ppm (qa - 2H - J = 7,1 Hz - CH₂),
 δ = 3,75 ppm (s - 2H - CH₂), δ = 1,71 ppm (t - 3H - J = 7,1 Hz - CH₃).

Les deux hydrogènes mobiles sont échangés avec l'eau lourde,
ce qui se traduit en RMN par la disparition progressive du signal corres-
pondant.

- Malonate d'éthyle et de TMS 15 (R = C₂H₅) (138)

3,3 g (25 mM) de l'acide 14 précédent, sont dissous dans 30 ml d'éther anhydre. On ajoute 2,5 ml de pyridine anhydre et 4 ml de TMCS. On agite 3 heures à température ambiante, on filtre sur filtre du type "millipore" en boîte à gants, on ajoute 10 ml d'hexane et on porte à sec. Il reste 4,5 g (22 mM) de malonate d'éthyle et de TMS dont le spectre RMN (sans solvant) correspond à :

$\delta = 3,85$ ppm (qa - 2H - J = 7,1 Hz-CH₂), $\delta = 3,00$ ppm (s - 2H - CH₂), $\delta = 0,93$ ppm (t - 3H - J = 7,1 Hz-CH₃), $\delta = 0,0$ ppm (s - 9H - SiMe₃).

- Lithiomalonate d'éthyle et de TMS 16 (R = C₂H₅)

La lithiation de 15 (R = C₂H₅) est réalisée comme dans la synthèse précédente, le butyllithium en solution dans l'hexane étant ajouté à la seringue à une solution refroidie à - 60°C de malonate d'éthyle et de TMS 15 dans l'éther anhydre et déperoxydé.

- Acylmalonate d'éthyle et de TMS 17

Au lithien 16 ainsi obtenu et maintenu à - 60°C, on ajoute le chlorure d'acide choisi en solution dans le monoglyme anhydre. On laisse la solution revenir à température ambiante, on agite une nuit, puis on hydrolyse par 10 ml d'eau.

II - Résultats

Nous avons réalisé deux essais de cette synthèse :

1 - Condensation de l'organolithien 16 sur le chlorure de benzoyle



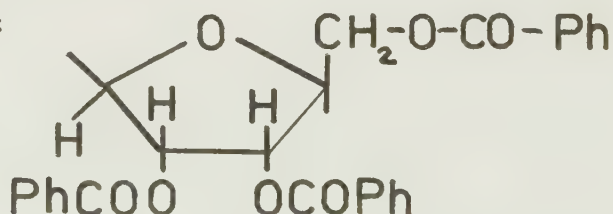
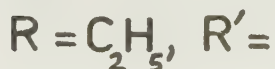
4,5 g (22 mM) de malonate d'éthyle et de TMS 15 sont traités par 10 mM de butyllithium et l'organolithien 16 obtenu est condensé sur 281 mg (2 mM) de chlorure de benzoyle.

Nous obtenons bien le benzoyl-2 acétate d'éthyle comme le montre une chromatographie sur plaque de gel de silice dans le solvant : Benzène-Acétate d'éthyle (6 -4).

Le produit final est purifié par chromatographie préparative sur plaque de gel de silice dans ce même solvant. On obtient 323 mg de produit, soit un rendement de 85 %.

Le spectre U.V. du produit purifié, pris dans l'éthanol montre deux maxima d'absorption à 282 mμ et 243 mμ.

2 - Condensation sur le chlorure de l'acide tri-O-benzoyle 3,4,6 anhydro-2,5 D-allonique



Les conditions de la synthèse sont identiques à celles de l'essai précédent. Le produit n'a pas pu être isolé à cause de sa très grande instabilité.

CHAPITRE IV

GENERALISATION DE L'EMPLOI DU MALONATE DE TMS A LA SYNTHESE D'AMINES α -CETONIQUES ^{14}C A PARTIR D'ACIDES CARBOXYLIQUES ^{14}C

I - Généralités

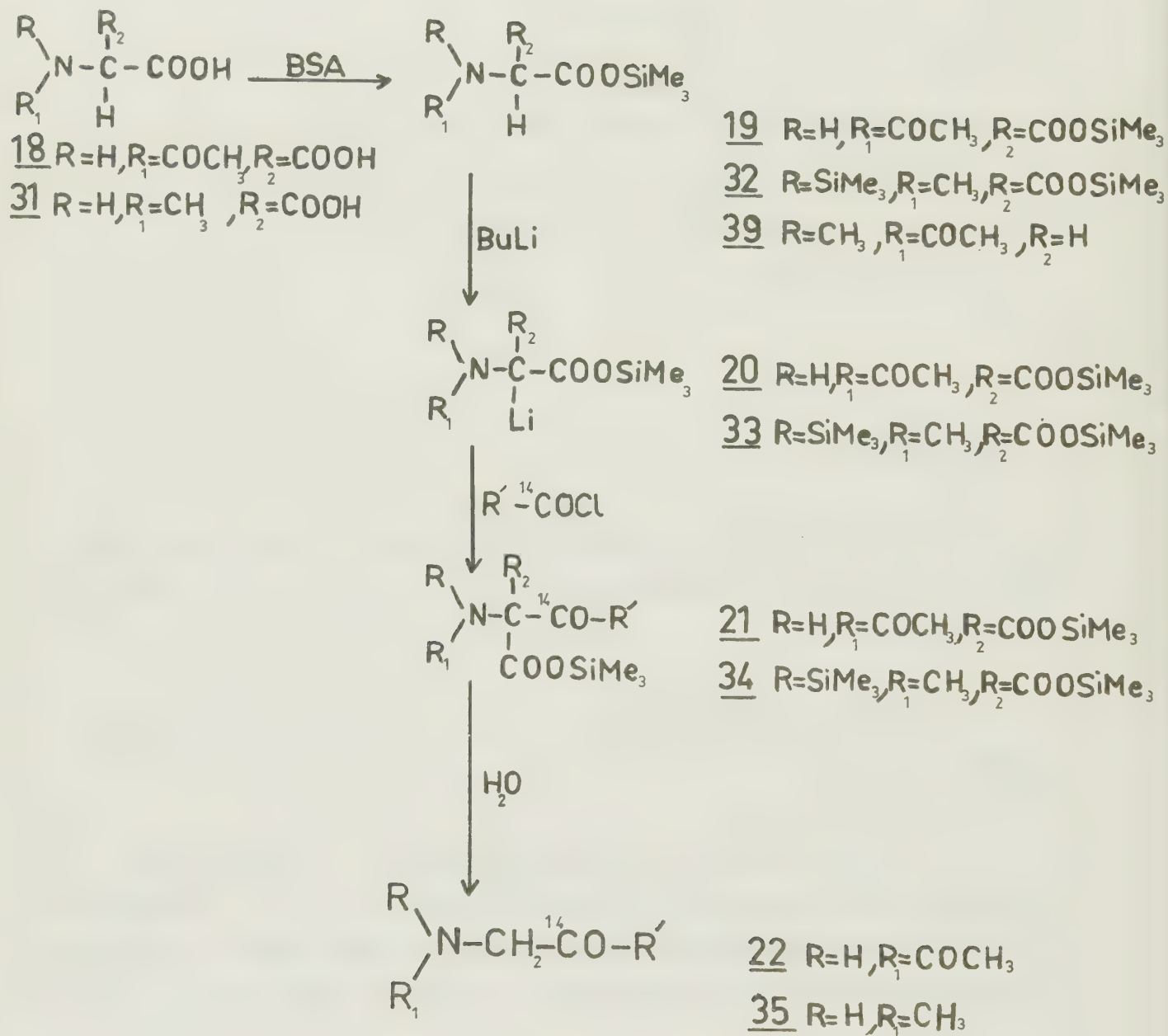
L'idée que nous avons exploitée consiste à utiliser les acides amino-ou acétamidomaloniques, voire même la glycine, la sarcosine ou l'acide acéturique.

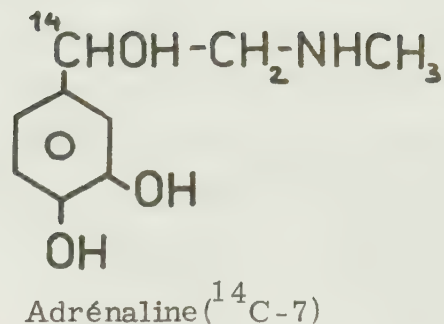
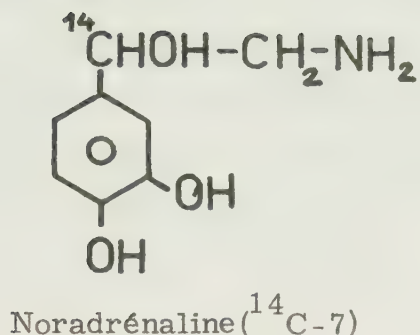
Le schéma réactionnel est représenté sur le tableau n° 6. p 64 .

Cette suite de réactions a été appliquée en particulier à la synthèse de deux composés très importants marqués au ^{14}C : l'adrénalone (^{14}C -7) et la noradrénalone (^{14}C -7) réduits quantitativement au moyen du palladium sur charbon en adrénaline (^{14}C -7) et en noradrénaline (^{14}C -7).

- TABLEAU n° 6

Synthèses d'amines cétoniques: emploi du malonate de TMS



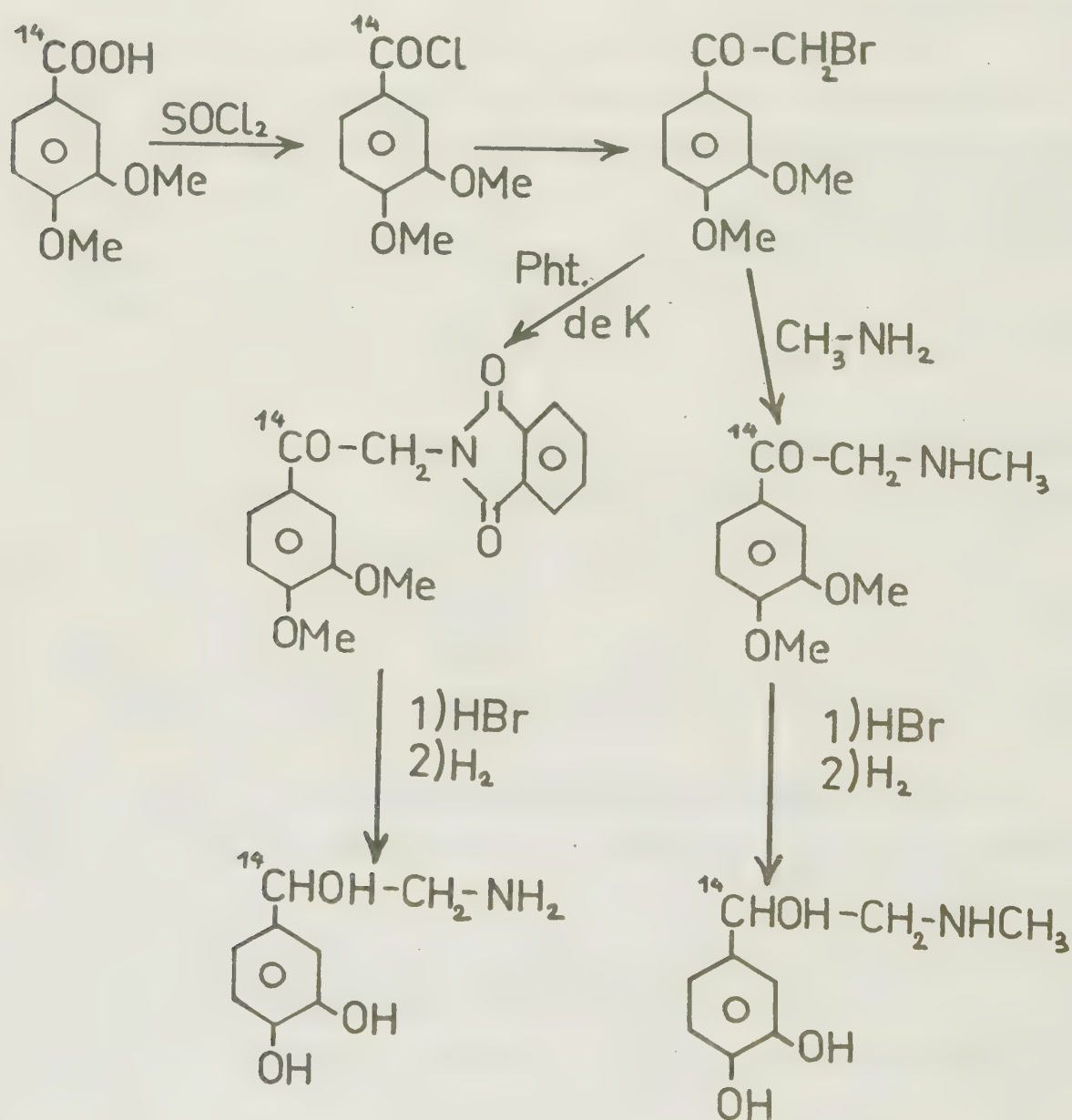


Ces deux catécholamines, dont la biosynthèse se fait à partir de la phénylalanine dans les cellules chromaffines, la médulosurrénale, les nerfs et les ganglions sympathiques, donnent l'acide méthoxy-3 hydroxy-4 mandélique comme métabolite principal. La noradrénaline est l'agent naturel de transmission des influx dans le système nerveux sympathique. Les effets de l'adrénaline et de la noradrénaline à des doses supérieures à $0,3 \mu\text{g}/\text{mn}/\text{kg}$ sont les suivants :

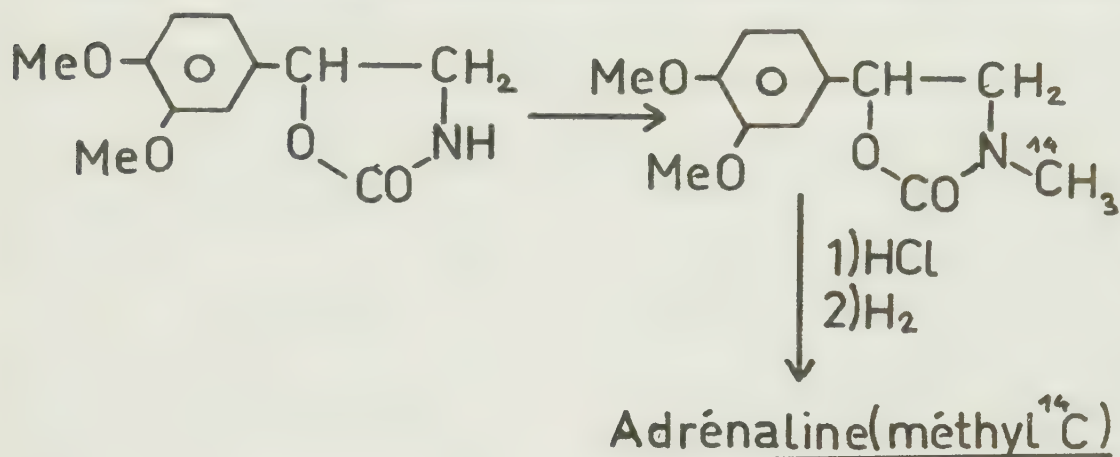
- hypertension artérielle chez l'homme (139)
- diminution de la circulation rénale sanguine et plasmatique (140)
- l'adrénaline augmente la consommation d'oxygène et donc élève la température corporelle ainsi que le métabolisme basal (141)
- l'adrénaline provoque chez l'homme agitation, inquiétude et angoisse
- l'adrénaline stimule la production d'hormones cortico-surrénales.

Ce bref résumé montre donc l'importance de ces deux catécholamines en biochimie et l'intérêt de la synthèse de l'adrénaline et de la noradrénaline marquées au carbone 14. Or, à notre connaissance, les méthodes de synthèse de ces deux composés marqués sont très peu nombreuses. Les premières synthèses d'adrénaline (^{14}C -7) et de noradrénaline (^{14}C -7) furent réalisées en 1953 par SCHAYER (142) avec un rendement

ne dépassant pas 5 °/°. En 1955, CLARK (143) obtenait la noradrénaline (^{14}C -1) avec un rendement de 20 °/° par rapport à l'acétate de sodium ^{14}C . La noradrénaline (^{14}C -2) est obtenue par FELDMAN, ZLOBINA et LEONOVA avec un rendement de 45 °/° par condensation du catéchol sur le chlorure de l'acide chloracétique (^{14}C -2) (144). A partir d'acide véricatrique (carboxyle ^{14}C), il est possible d'obtenir la noradrénaline (^{14}C -7) et l'adrénaline (^{14}C -7) avec des rendements respectifs de 70-75 °/° et de 30-35 °/° (145) selon le schéma :



Signalons aussi l'obtention de l'adrénaline (méthyle ^{14}C) (146)
avec un rendement de 45 % selon le schéma réactionnel suivant :



Nous avons essayé d'appliquer le schéma réactionnel décrit
au début de ce chapitre, en particulier à la synthèse de l'adrénaline
(^{14}C -7) qu'aucune méthode connue ne fournit avec un fort rendement.

Le tableau suivant résume les composés que nous avons ainsi
tenté de synthétiser.

R	R ₁	R ₂	R'	Produit obtenu
H	COCH ₃	COOH	COOEt-CH ₂ -CH ₂	δ-AAL inactif
H	COCH ₃	COOH	Ph CO	PhCOCH ₂ NH ₂ ²³ ou PhCOCH ₂ NH ₂ C(=O)CH ₃ ^{23'}
H	COCH ₃	COOH	(OMe) ₂ Ph CO	Noradrénalone (¹⁴ C) ²⁴
H	CH ₃	COOH	Ph CO	PhCOCH ₂ NHCH ₃ (¹⁴ C) ²⁵
H	CH ₃	COOH	(OMe) ₂ Ph CO	Adrénalone (¹⁴ C) ²⁶
H	COCH ₃	H	Ph CO	PhCOCH ₂ NH ₂ ²³ ou PhCOCH ₂ NH ₂ C(=O)CH ₃ ^{23'}
H	COCH ₃	H	(OMe) ₂ Ph CO	Noradrénalone (¹⁴ C) ²⁴
CH ₃	COCH ₃	H	(OMe) ₂ Ph CO	Adrénalone (¹⁴ C) ²⁶
H	H	H	Ph CO	²³
H	H	H	(OMe) ₂ Ph CO	Noradrénalone (¹⁴ C) ²⁴

II - Synthèse d'amines primaires α-cétoniques

1 - Emploi d'acétamidomalonate de TMS ¹⁹

SCHRECKER et TRAIL (26) ont transformé des chlorures d'acides en amines α cétoniques par condensation sur le dérivé sodé de

malonate

l'acétamido d'éthyle ou de tertibutyle avec des rendements souvent faibles. Dans notre cas, l'introduction des dérivés lithiés et silylés a conduit à des rendements élevés.

a) Synthèse de δ -AAL inactif



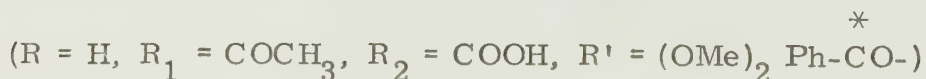
Le chlorure de l'acide succinique monoester éthylique est condensé sur l'organolithien 19 pour conduire après hydrolyse à δ -AAL inactif avec un rendement de 60 % par rapport au chlorure d'acide initial. L'emploi d'acétamidomalonate d'éthyle ou de tertibutyle conduit à δ -AAL inactif avec un rendement qui n'est que de 10 % (26). Dans notre cas, une difficulté consistait à séparer δ -AAL obtenu de la glycine résultant de l'excès d'acétamidomalonate de TMS 19. Ce problème a pu être résolu.

b) Synthèse d' α -amino acétophénone 23



La condensation de l'organolithien 19 sur le chlorure de benzoyle marqué conduit, après hydrolyse acide, à l' α aminoacétophénone 23 marquée sur la fonction cétone avec un rendement de 88 % après purification. Ce rendement est donc légèrement supérieur à celui obtenu par SCHRECKER et TRAIL (26) qui était de 80 % .

c) Synthèse de noradrénalone (^{14}C -7) 24



Nous avons pu, par cette méthode, obtenir par condensation du chlorure de veratroyle (^{14}C) obtenu quantitativement à partir d'acide

vératrique (^{14}C) sur l'organolithien 19, la noradrénalone (^{14}C) avec un rendement de 75 % par rapport à l'acide vératrique initial. Nous avons purifié la noradrénalone (^{14}C) obtenue. La méthode que nous décrivons permet donc d'accéder à la noradrénaline (^{14}C) très simplement et avec un excellent rendement.

d) Synthèse de cétoornithine (^{14}C -4) 27



L'histidine est un des aminoacides essentiels. De nombreuses études nécessitent donc l'utilisation de ce composé marqué au ^{14}C . On obtient facilement l'histidine (^{14}C -2) à partir de la cétoornithine et du thiocyanate d'ammonium (^{14}C) selon (27). Nous nous sommes proposés la synthèse de l'histidine (^{14}C) par l'intermédiaire de cétoornithine (^{14}C) obtenue à partir de glycine (^{14}C -1) (ou -2). Le tableau n° 7 montre que par condensation entre la phthalimidobromopropanone (^{14}C) 5 et le dérivé lithié de l'acétamido malonate de TMS 19, il est possible d'obtenir la cétoornithine (^{14}C) par une simple hydrolyse à l'eau suivie d'une hydrolyse acide. Il ne s'agit donc plus d'une condensation avec un chlorure d'acide mais avec une bromocétone. Cela va se traduire par une baisse sensible du rendement par rapport aux essais précédents.

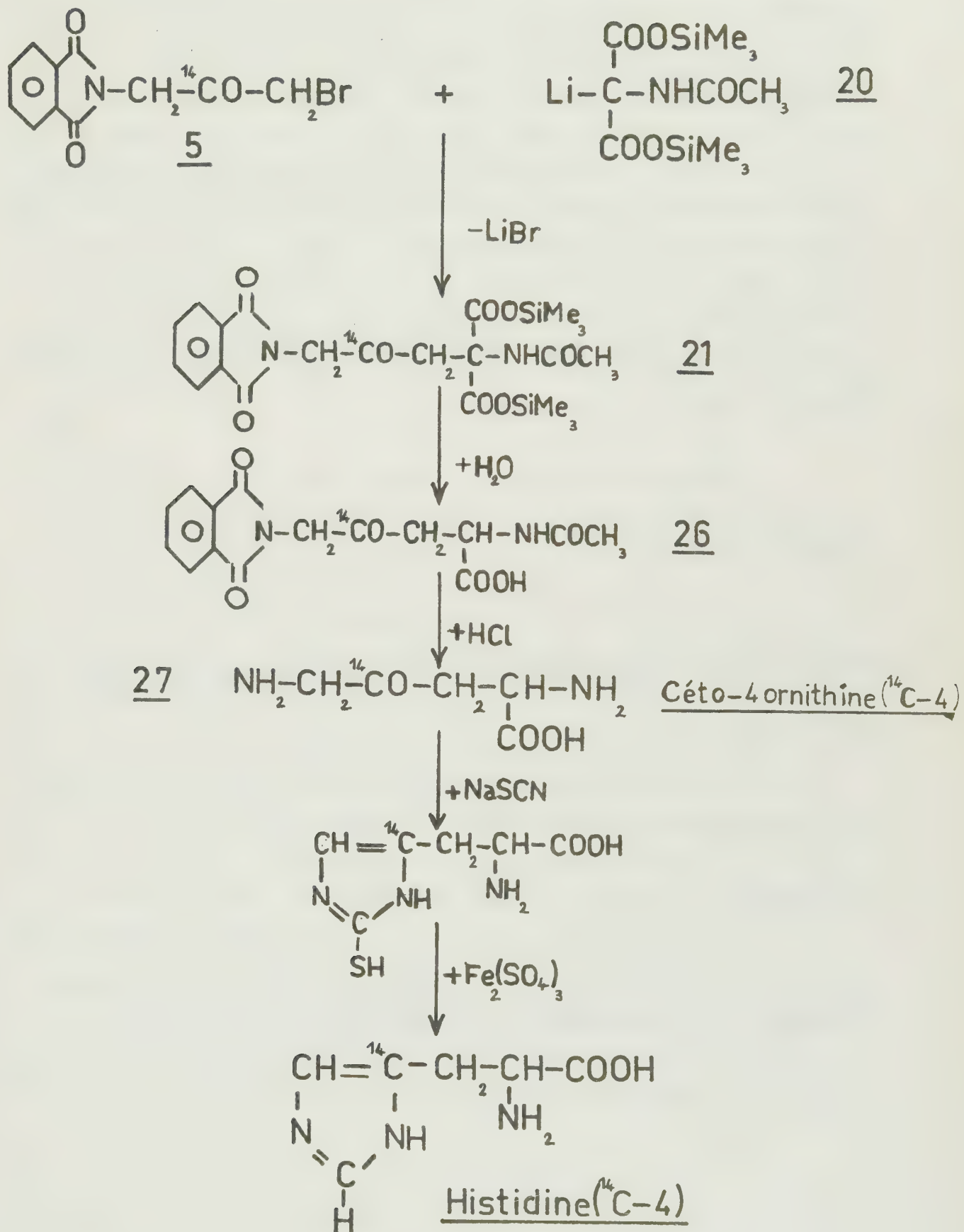
Effectivement, la condensation entre l'organolithien 19 et la bromocétone 5 n'a lieu ni à froid ni à température ambiante (essais 1 et 2). Par contre, elle se produit à reflux dans l'éther et on obtient entre 20 et 35 % de cétoornithine (^{14}C) 23 par rapport à la cétone bromée 5.

L'addition de 8 % de HMPT au DME n'améliore pas le rendement (essais 4 et 5). Celui-ci atteint alors environ 20 %. En présence de HMPT, la condensation a lieu aussi à température ambiante (essai 4), avec

TABLEAU n° 7

- 71 -

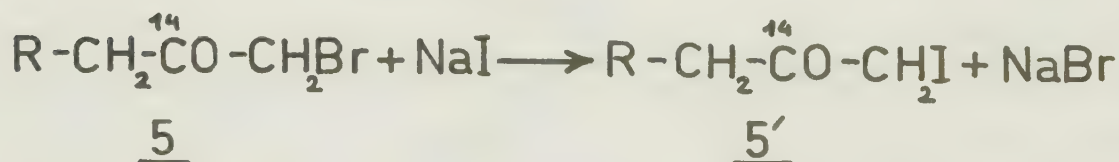
Synthèse d'Histidine(¹⁴C-4) utilisant le malonate de TMS



un rendement voisin de 20 %; donc la température de condensation n'intervient pas sur le rendement final. Par contre, une condensation à reflux en présence de HMPT donne un produit final plus pur que celui obtenu en l'absence de HMPT.

En effet, l'addition de HMPT fait disparaître un des produits actifs finaux que nous avons caractérisé comme étant le produit d'hydrolyse de la bromocétone (^{14}C) 5. En l'absence de HMPT, la réaction n'est pas totale, même à reflux (28 % de la cétone bromée 5 ne réagissent pas). Avec le HMPT, toute la cétone bromée 5 est transformée, mais 20 % seulement conduisent à la cétoornithine (^{14}C) 27, les 80 % restants donnant un produit actif non identifié.

Nous avons pensé que la phtalimido iodo propanone, plus réactive que la cétone bromée 5 donnerait de meilleurs résultats. On forme ce dérivé iodé "in situ" par addition de NaI selon le schéma :



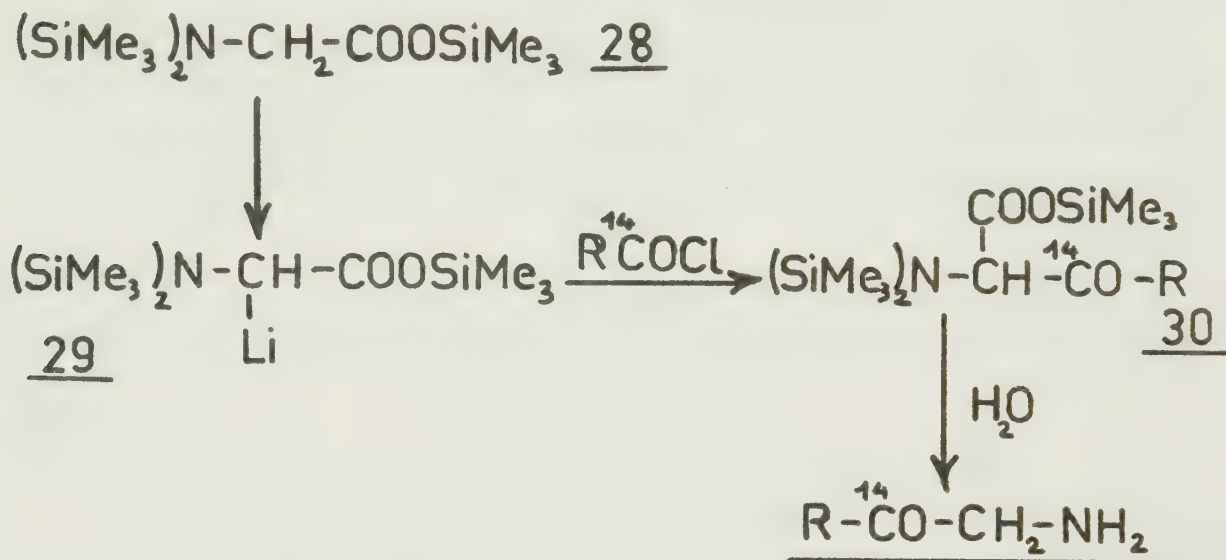
Le rendement est légèrement plus élevé, mais ne dépasse pas 30 % par rapport à la bromocétone 5 initiale (essai 7).

- Remarque

Ces résultats sont voisins de ceux signalés par O. WISS et M. FUCHS (28), qui condensent le dérivé sodé de l'acétamido malonate d'éthyle sur la bromacétone avec un rendement de 30 % seulement.

2 - Emploi de la glycine silylée 28

Nous nous sommes demandés si l'obtention d'amines primaires α cétoniques à partir de chlorures d'acides, était possible au moyen de la glycine silylée 28 selon le schéma réactionnel suivant :



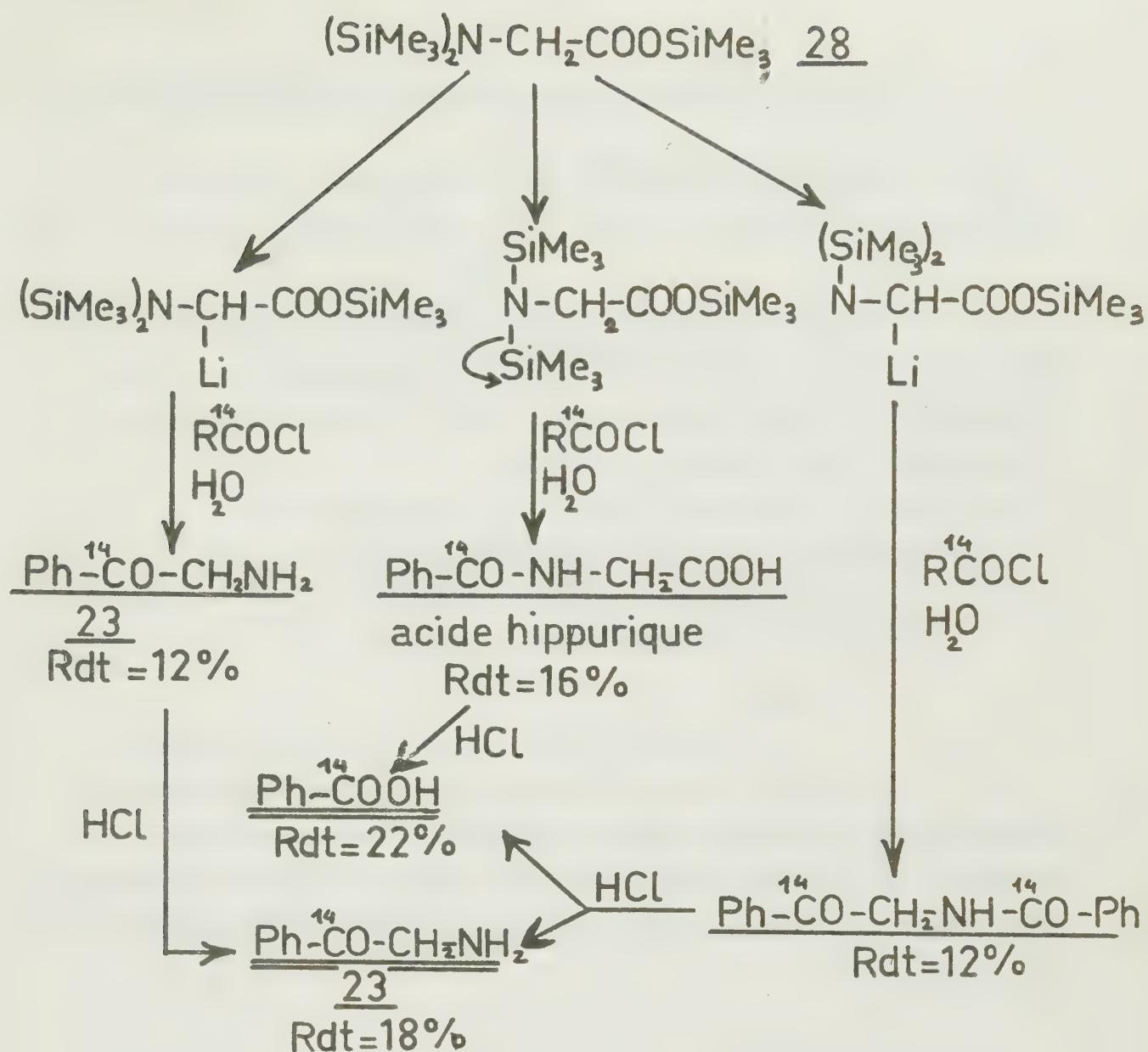
Bien entendu, le glycinate de TMS 28 ne possède pas de proton aussi mobile que l'acétamido malonate de TMS 19. Il était déjà prévisible que les rendements pourraient être inférieurs. Néanmoins la dérivé sodé de la glycine silylée est facilement obtenu et peut être C-alcoylé (29, 30) Nous pouvions raisonnablement espérer qu'il en serait de même pour le dérivé lithié 29 et que la condensation aurait lieu. En théorie, cette méthode permettrait en particulier de fabriquer la noradrénalone (^{14}C) 24, en utilisant une matière première encore plus accessible que l'acétamido malonate de TMS 19.

En utilisant un mode opératoire identique à celui adopté dans le cas de l'emploi de l'acétamidomalonate de TMS 19 nous avons étudié la possibilité de condensation entre le dérivé lithié du glycinate de TMS 29

et le chlorure de benzoyle pour donner l' α aminoacétophénone 23 (ou la noradrénalone 24 en partant de chlorure de vératroyle). Dans ces conditions, trois produits actifs sont obtenus. Le premier (15 % de l'activité initiale) correspond à l'aminocétophénone témoin. Le second est de l'acide hippurique $\text{Ph-CO-NH-CH}_2\text{-COOH}$ car ce composé et l'acide hippurique témoin ont le même Rf dans tous les systèmes de solvants utilisés. L'obtention de cet acide ne peut s'expliquer que par une condensation sur l'azote (pourtant doublement silylé). On sait que (36) des amines résultent de l'action de chlorures d'acides sur les composés N-TMS selon la réaction :



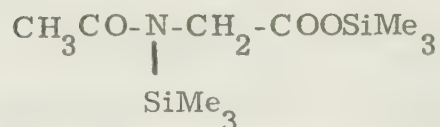
Quant au produit B, il s'agit du produit de double condensation sur le carbone et sur l'azote, c'est-à-dire $\text{Ph-CO-CH}_2\text{-NH-CO-Ph}$, car son hydrolyse acide réalisée sur deux essais (2 et 3) conduit à deux produits actifs seulement : l' α -aminoacétophénone (^{14}C) et l'acide benzoïque (^{14}C). Il est donc certain qu'avec le glycinate de TMS, l'acylation par le chlorure d'acide se produit sur le carbone ou sur l'azote selon le schéma suivant :



Finalement, on obtient 18 % d' α -aminoacétophénone (^{14}C) $\underline{\underline{23}}$ par rapport à l'acide benzoïque initial, et on régénère 22 % de ce dernier.

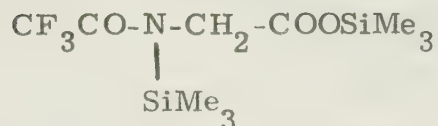
Ces rendements sont insuffisants pour effectuer une synthèse active intéressante de noradrénaline en particulier. Il nous a semblé possible d'améliorer ces résultats par :

- Utilisation d'acide acéturique silylé



Nous avons pensé que le groupement acétyle porté par l'azote pourrait empêcher l'acylation sur l'azote. Les rendements en α amino-acétophénone n'ont pas dépassé 30 %, même en réalisant la lithiation et l'acylation à des températures élevées.

- Emploi de trifluoroacétyl glycine silylée



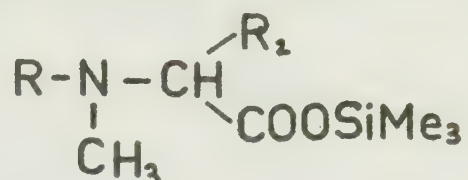
Il s'agissait de vérifier l'influence des effets électroniques du groupe fixé sur la fonction amine. Le groupe trifluoroacétyl (TFA) étant fortement attracteur d'électrons, on pouvait espérer diminuer la densité électronique de l'azote et, par là même, diminuer le pourcentage de N-condensation.

Les rendements en α -amino-acétophénone(¹⁴C) 23 ont toujours été voisins de 20 %. L'influence électronique du groupement trifluoro-acétyl n'a donc pas d'effet important sur la valeur du rendement.

Il résulte de tous ces essais que, si l'emploi de glycine silylée 28 ne conduit pas en pratique à des rendements élevés, la mise en oeuvre d'acétamido malonate de TMS 18 permet par contre d'obtenir très simplement et rapidement d'excellents résultats. En synthèse active, les amines primaires α - cétoniques sont ainsi facilement accessibles.

III - Synthèse d'amines secondaires α - cétoniques

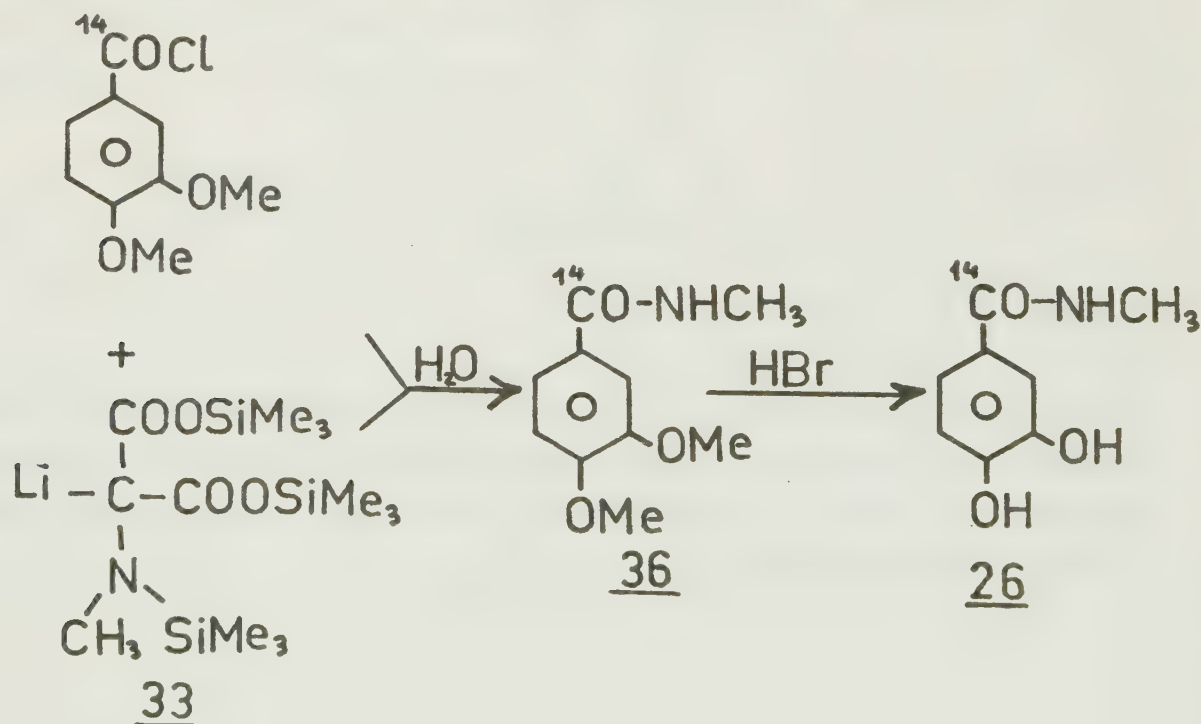
Dans le schéma général figuré au début du Chapitre IV, nous voyons qu'il suffit d'utiliser pour cette synthèse un ester silylé du type :



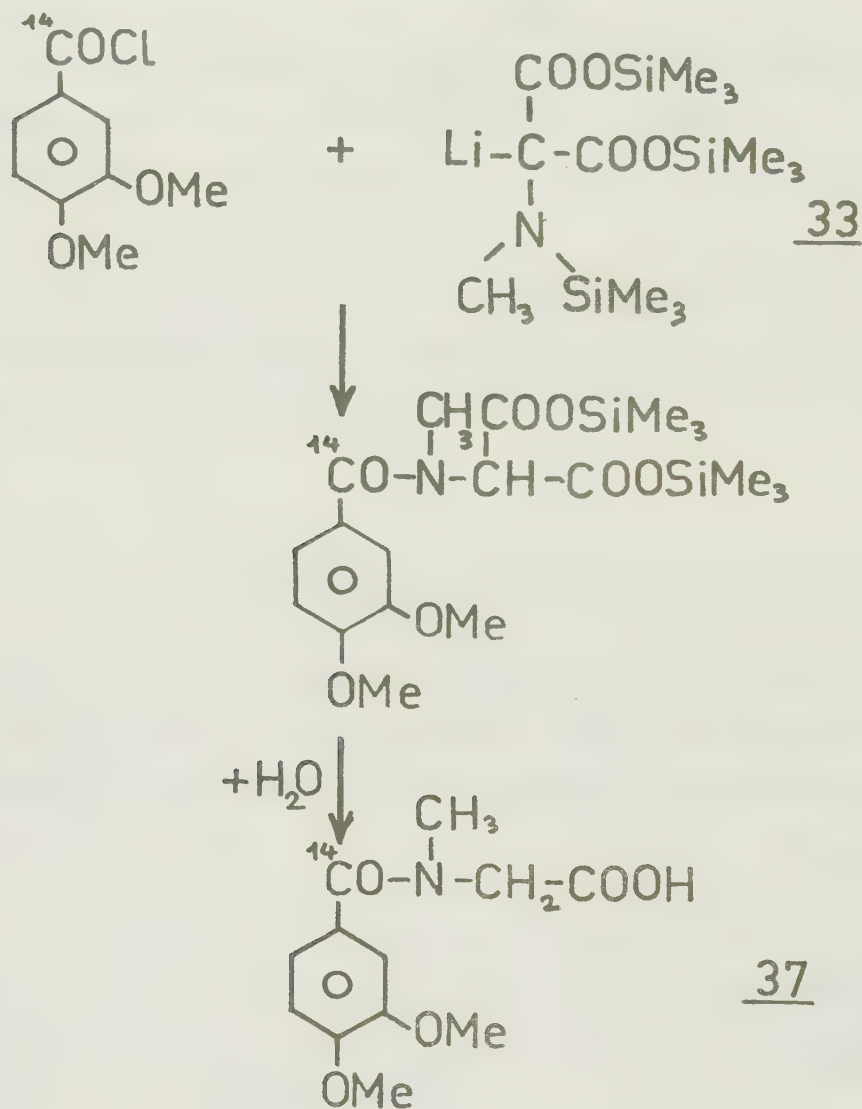
A cette catégorie appartiennent la sarcosine et l'acide méthylaminomalonique 31 qui tous deux devraient, selon ce schéma, conduire à l'adrénalone (^{14}C) 26. Les résultats ont été très différents de ce que nous attendions.

1 - Emploi de l'acide N-méthyl amino malonique 31

Nous avons tenté de synthétiser l'adrénalone (^{14}C -7) par acylation du dérivé lithié du N-méthyl amino malonate de TMS 33 au moyen du chlorure de véatroyle (^{14}C) selon le schéma réactionnel suivant :

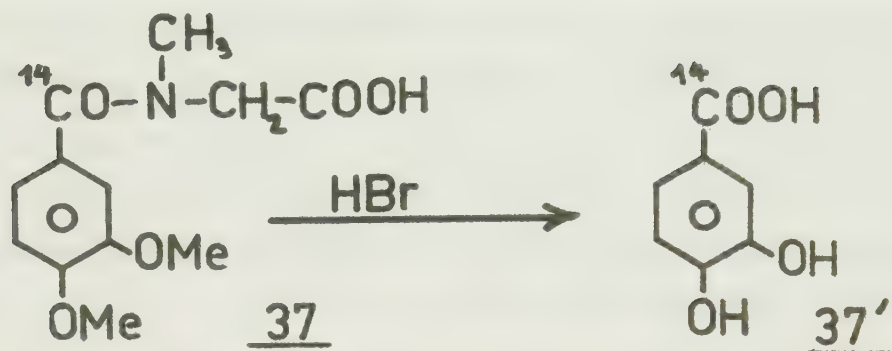


Nous avons tenté de caractériser la diméthoxyadrénalone 36 que nous pensions obtenir. Or ce composé 36 ne s'est pas formé car il y a eu condensation sur l'azote (avec un rendement quantitatif), malgré la présence d'un groupement TMS sur l'hétéroatome, selon le schéma :



Les spectres RMN et des chromatographies ont montré que nous avons bien obtenu le composé 37 à la place de la diméthoxyadrénalone 36 attendue. De plus, ce composé 37 par hydrolyse bromhydrique a conduit à l'acide protocatéchique 37' marqué, comme le montrent les chromatogra-

phies sur papier, selon le schéma :



L'acétylation de l'acide méthyl amino malonique 31 devrait empêcher l'acylation sur l'azote. Malheureusement l'acide N-acétyl N-méthyl amino malonique 38 n'a pas pu être obtenu dans de bonnes conditions et le rendement maximum en adrénalone (^{14}C) a été de 30 %.

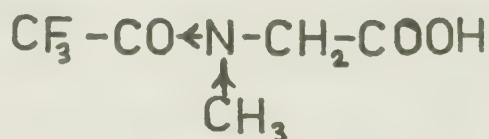
2 - Emploi de la N-acétyl sarcosine silylée 39

Dans ce cas, toute condensation sur l'azote est impossible et on ne doit plus former d'acide protocatéchique. Par contre, il n'y a plus comme précédemment d'hydrogène très mobile. Nous avons vérifié s'il était possible d'obtenir par cette voie de l'adrénalone (^{14}C), et avec quel rendement.

Avec une température de lithiation de -70°C , nous n'obtenons pas du tout d'adrénalone. Toutefois, une deutérololyse du lithien formé à -10°C indique, d'après les calculs faits sur les spectres RMN, un pourcentage de lithiation de 70 %. La lithiation a donc bien lieu à cette température, mais aucune condensation n'a pu être obtenue avec le chlorure de vératroyle comme l'indique l'absence d'adrénalone dans tous les essais effectués.

Nous ne savons pas comment expliquer cette absence de condensation. Nous ne pensons pas qu'un empêchement stérique intervienne. Il doit plutôt s'agir d'effets inductifs ou peut-être du caractère partiel de double liaison entre les atomes C-N que nous décrivons dans la Partie Expérimentale.

Nous avons modifié les effets inductifs des substituants en utilisant la trifluoroacétyl sarcosine (pour laquelle existe aussi le caractère partiel de double liaison).



L'acylation du dérivé lithié du trifluoroacétyl sarcosinate de TMS par le chlorure de vératroyle n'a pas été possible.

Après l'hydrolyse bromhydrique finale, nous avons retrouvé toute l'activité de départ et constaté qu'il ne s'était pas formé d'adrénalone.

IV - Synthèse d'amines α -cétoniques : conclusion

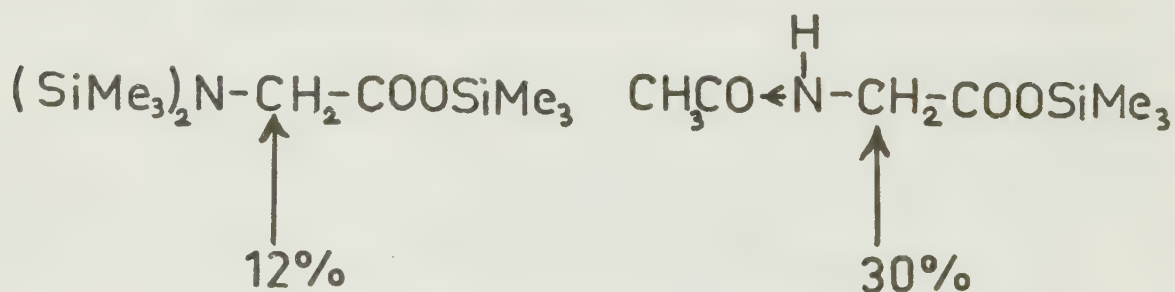
La C-acylation du dérivé lithié de l'acétamidomalonate de TMS par les chlorures d'acide ¹⁴C se fait dans de bonnes conditions et avec un rendement élevé pour donner des α -acétamidocétones marquées au carbone 14 dont l'hydrolyse conduit aux α -aminocétones. Si l'hydrogène acide, au niveau duquel se fait la condensation, perd une partie de son caractère acide (cas du glycinate de TMS), une réaction concurrente a lieu et se traduit par une condensation sur l'azote.

Si on veut utiliser le N-méthyl amino malonate de TMS cette condensation se fait à 100 % sur l'azote, bien que celui-ci soit initialement protégé par un groupe TMS. Il n'a pas été possible d'éviter dans de bonnes conditions cette N-acylation en protégeant la fonction amine secondaire, par exemple en l'acétylant. Ce dernier type de protection a été réalisé avec l'acétylsarcosinate de TMS 39, qui a un proton beaucoup moins acide que le N-méthyl amino malonate 32 et, dans ce cas, aucune condensation n'a lieu puisque les rendements en adrénalone sont restés nuls.

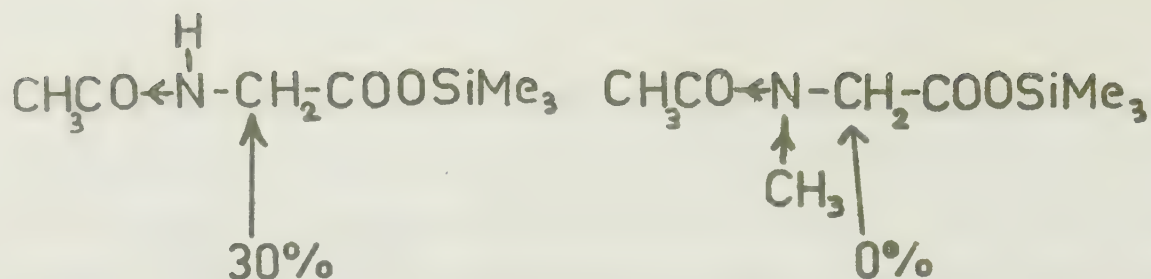
On est donc amené à tirer les conclusions suivantes :

1) La présence d'un groupe accepteur d'électrons sur l'azote de la fonction amine favorise la condensation du chlorure d'acide au niveau de l'hydrogène mobile.

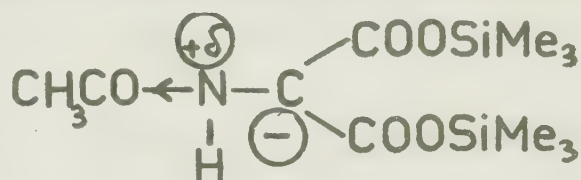
Ainsi, dans les mêmes conditions, la condensation attendue a lieu à 12 % avec la glycine et à 30 % avec l'acide acéturique.



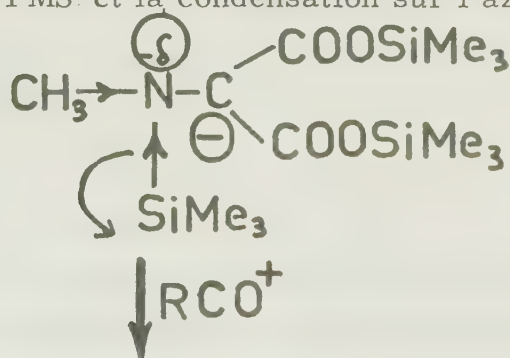
2) La présence d'un groupe donneur d'électrons sur l'azote de la fonction amine défavorise très nettement la condensation du chlorure d'acide au niveau de l'hydrogène mobile. Ainsi, dans les mêmes conditions, la condensation attendue a lieu avec un rendement de 30 % sur l'acide acéturique et de 0 % sur l'acétylsarcosine.



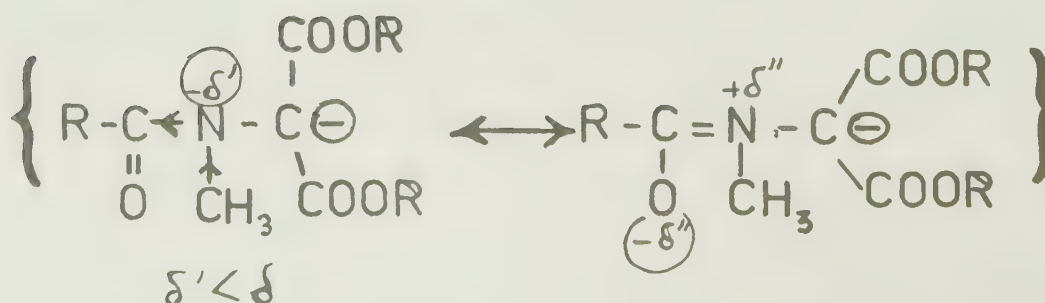
La comparaison plus particulièrement entre l'acétamido malonate de TMS et le N-méthylamino malonate de TMS peut expliquer les résultats obtenus si on fait intervenir les effets inductifs. Dans le premier cas, on assiste à une polarisation de la molécule, augmentant sa stabilité et renforçant la charge partielle négative du méthylène.



Par contre, dans le deuxième cas, les deux groupements : méthyle et TMS, tous deux donneurs d'électrons, augmentent fortement la densité électronique de l'azote, créant une charge partielle négative, peut-être supérieure à celle du groupe méthylène. De plus, il en résulte pour la molécule une instabilité, sans doute en partie compensée par le départ du groupement TMS et la condensation sur l'azote, la molécule N-acylée étant



au moins partiellement stabilisée.



PARTIE EXPERIMENTALE

I - Synthèse d'amines primaires α - cétoniques

1 - Emploi d'acétamido malonate de TMS 19

a) Acide acétamidomalonique 18



L'acide acétamidomalonique libre est obtenu par saponification de l'ester éthylique correspondant selon (26).

31,5 g (145 mM) d'ester éthylique sont mis en suspension dans 60 ml d'un mélange glace et eau. On refroidit à 0°C et on ajoute goutte à goutte 60 ml d'une solution de soude 5 N (300 mM). La solution devient limpide. On agite une heure à température ambiante puis on dilue à un volume de 300 ml et on passe cette solution sur une colonne de 150 g de Dowex 50 W X12 (forme H^+) préalablement traitée. On lave ensuite la colonne par 400 ml d'eau et on porte à sec sous vide à l'évaporateur rotatif sans chauffer. On sèche le produit obtenu sur P_2O_5 .

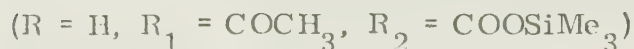
- PF - 118°C (littérature : 120°) (142)

- spectre RMN (solvant : D_2O = 10 %)

D_2O à 5,25 ppm - δ = 2,45 ppm (s - 1H - CH)

La silylation de l'acide est effectuée par le TMCS ou par le BSA.

b) Acétamidomalonate de TMS 18



- Silylation par le BSA

2 g (12,5 mM) d'acide 18 sont mis en suspension dans 10 ml d'éther. On ajoute 10 ml de BSA. La solubilisation est immédiate. On agite encore 5 minutes à température ambiante. On porte à sec et on chasse le MSA sous vide à 100°C. Il reste 3,3 g (11 mM) d'une huile incolore (Rdt 87 %).

- Silylation par le TMCS

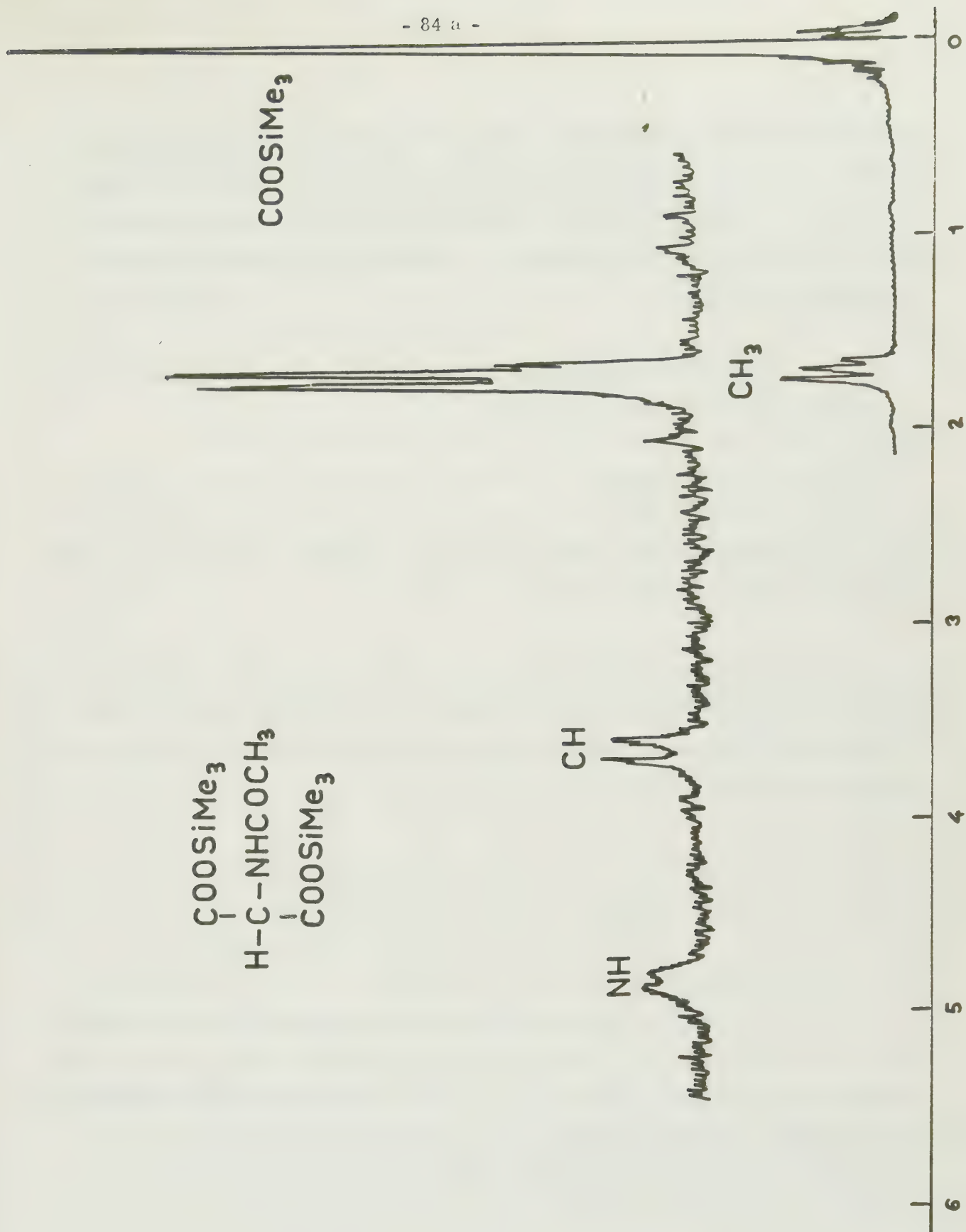
3,2 g (20 mM) d'acide 18 sont mis en suspension dans 30 ml d'éther. On ajoute 5 ml de pyridine anhydre et 20 ml de TMCS. Après une nuit d'agitation à température ambiante, on ajoute 10 ml d'hexane et on filtre sur " millipore " en boîte à gants. On porte à sec sous vide. Il reste 2,57 g (8,4 mM) d'une huile incolore (Rdt 42 %).

Spectre RMN (solvant : $CDCl_3$)

$\delta = 6,45$ ppm (d - 1H - J = 6Hz - NH), $\delta = 4,80$ ppm (d - 1H - J = 6Hz - CH), $\delta = 1,87$ ppm (s - 3H - CH_3), $\delta = 0,00$ ppm (s - 18H - $SiMe_3$).

c) Mode opératoire général

3 g (10 mM) d'acétamido malonate de TMS 19 sont lithiés à - 60°C dans l'éther anhydre par 5 mM d'une solution de n-butyllithium



dans l'hexane (à 2, 2 mM/ml). Après 5 minutes d'agitation à cette température, on ajoute 1 à 2 mM de chlorure d'acide (en solution dans 50 ml de DME) à la solution de lithien maintenue à - 60°C. On laisse ensuite le mélange se réchauffer à température ambiante et on agite une nuit. Puis on hydrolyse à l'eau.

La suite du mode opératoire dépend du produit condensé et sera indiquée pour chaque cas particulier.

d) δ -AAL inactif

5 mM de l'organolithien 20 sont condensés avec 10 mM du chlorure de l'acide succinique monoester éthylique

Après l'hydrolyse à l'eau des groupements TMS, l'essai est porté à sec et hydrolysé par un mélange HCl-CH₃ COOH (50 - 50). Les chromatographies sur plaques de gel de silice (révélées à la ninhydrine) laissent apparaître trois taches :

- violette	Rf = 0,34	glycine
- jaune	Rf = 0,42	δ -AAL
- jaune	Rf = 0,76	non identifiée

Le dosage par auto-analyseur d'acides aminés donne un rendement en δ -AAL de 60 % par rapport au chlorure d'acide initial. L'acide ainsi obtenu est fortement souillé de glycine provenant de l'excès d'acide acétamidomalonique 18 ; pour l'éliminer on a tenté de passer en milieu alcalin après l'hydrolyse des groupements TMS puis d'extraire à l'éther avant l'hydrolyse acide finale. Dans ce cas, on n'obtient plus de δ -AAL. Il a

toutefois été possible d'éliminer presque totalement la glycine, en amenant après hydrolyse le pH de la couche aqueuse à 7 par addition de NaOH 1N (le pH est suivi au pH mètre). Il suffit d'extraire à l'éther et de faire l'hydrolyse acide. L'auto-analyseur d'acides aminés a révélé qu'il ne restait plus de glycine.

e) N-acétyl α -aminoacétophénone 23'

Après l'hydrolyse à l'eau des groupes TMS, on passe en milieu alcalin et on extrait en continu à l'éther. Le produit final est purifié par chromatographie préparative sur plaque (de gel de silice) dans le solvant : Benzène - Acétate d'éthyle (6 - 4). Nous avons fait les deux essais inactifs suivants :

	Ester silylé <u>19</u>		BuLi	Ph COCl		PhCOCH ₂ NHCOCH ₃ <u>23</u>		Rende- ment
1	3,3 g	11 mM	8 mM	140,5 mg	1 mM	156 mg	0,88 mM	88 %
2	1,6 g	5,2 mM	3 mM	140,5 mg	1 mM	100 mg	0,60 mM	60 %

- Spectre U.V. (solvant : éthanol) conforme à la littérature (26)
2 maxima d'absorption à 279,5 et 242,5 m μ .

- Spectre RMN (solvant : CCl₄)

δ = 8,04 et 7,48 ppm (massifs - 5H - Ph) - δ = 6,24 ppm (massif - 1H - NH)
 δ = 4,18 ppm (d - 2H - J = 4,5 Hz - CH₂) - δ = 2,02 ppm (s - 3H - CH₃)

f) Noradrénaline (^{14}C -7)

L'acylation de l'organolithien 20 est effectuée par le chlorure de benzoyle (^{14}C - carboxyle).

L'hydrolyse à l'eau est dans ce cas suivie d'une hydrolyse par l'acide bromhydrique à 48 °/o, fraîchement distillé (15 heures à 100°C) afin de déméthyliser les hydroxyles phénoliques.

Nous avons effectué les deux essais traceurs suivants :

	Ester silylé <u>19</u>		BuLi	Chlorure de véatroyle (^{14}C)			Noradrénalone			Rdt
1	2,9g	9,5 mM	4 mM	1 mM	218,5 mg	1 mCi	110 mg	0,75 mM	0,75mCi	75 °/o
2	1,9 g	6,4 mM	4 mM	1 mM	218,5 mg	1 mCi	97mg	0,66 mM	0,66mCi	66 °/o

Les rendements ont été calculés d'après l'enregistrement des chromatographies sur papier Whatman n° 1 dans le solvant : Butanol-Acide acétique-Eau (50 - 25 - 25). Le chromatogramme comporte trois taches (révélées à la ninhydrine).

- violet inactive Rf = 0,31 glycine
- jaune active Rf = 0,38 noradrénalone (75 °/o)
- jaune active Rf = 0,78 non identifiée (25 °/o)

Une fraction du premier essai a été purifiée par chromatographie préparative papier dans le solvant cité ci-dessus. Ceci a permis d'obtenir

le spectre U.V. (dans l'eau) de la noradrénalone synthétisée. Ce spectre est superposable à celui de la noradrénalone témoin ($\lambda_{\text{max}} = 228, 278$ et $308 \text{ m}\mu$).

La noradrénalone est réduite quantitativement en noradrénaline au moyen de palladium sur charbon.

g) Cétoornithine (^{14}C -4) 27

Le lithien 20 est préparé à -60°C par action du butyllithium. La phtalimidobromo propanone 5 en solution dans le DME (avec ou sans HMPT) est ajoutée au lithien à -60°C . Lorsque la solution est revenue à température ambiante, on agite une nuit à cette température ou bien on chauffe une nuit à reflux. Après hydrolyse à l'eau, l'essai est porté à sec sous vide à l'évaporateur rotatif et repris à l'eau. Les résultats sont déduits des enregistrements des chromatographies sur papier dans le solvant : Butanol-Acide acétique-Eau (50 - 25 - 25) ou du passage sur auto-analyseur d'acides aminés.

Les résultats sont les suivants :

Essai n°	Ester silylé <u>32</u>		BuLi	Bromocétone <u>5</u>		T de cond.	HMPT	Rdt
1	3,75 g	12 mM	4,5 mM	0,75 mM	0,75mCi	25°C	sans	0 %.
2	3,5 g	10 mM	4,5 mM	1 mM	0 mCi	25°C	sans	0 %.
3	3,5 g	10 mM	4,5 mM	1 mM	0 mCi	reflux	sans	20 %.
4	5 g	15 mM	7 mM	2,5 mM	1,4 mCi	reflux	sans	21 %.
5	1,8 g	5 mM	2,3 mM	0,5 mM	0 mCi	25°C	8 %.	20 %.
6	1,8 g	5 mM	2,3 mM	0,5 mM	0 mCi	reflux	8 %.	20 %.
7	3,5 g	10 mM	4,5 mM	1 mM + 1 mM NaI		reflux	sans	30 %.

A côté de la cétoornithine 27 formée et de la glycine inactive (résultant de l'excès d'acétamidomalonate de TMS 19), on forme aussi deux produits actifs C et D, révélés respectivement en orange-violet et en jaune à la ninhydrine. L'addition de 8 % de HMPT au DME a une nette influence sur l'obtention de ces deux composés actifs, comme le montrent les essais 4 et 6, dont les résultats figurent sur le tableau ci-dessous :

	Rf	Ninhydrine	Essai 4 (sans HMPT)	Essai 6 (avec HMPT)
			Pourcentage d'activité	Pourcentage d'activité
Tache A (cétornithine)	0,12	orange	21 %.	20 %.
Tache B (glycine)	0,30	violet	0 %.	0 %.
Tache C (non identifiée)	0,36	orange-violet	28 %.	0 %.
Tache D (non identifiée)	0,71	jaune	48 %.	80 %.

L'addition de HMPT fait disparaître la tache C ($R_f = 0,36$), active et révélée à la ninhydrine en orange-violet.

Nous avons pu montrer que cette tache correspondait au produit d'hydrolyse acide de la phtalimidobromopropanone 5 (^{14}C). Pour cela, nous avons traité de la bromocétone 5 témoin selon le mode opératoire décrit précédemment, et nous avons obtenu un produit donnant dans le système de solvant considéré une tache orange-violet à la ninhydrine, de $R_f = 0,36$.

Pour l'essai n° 7, la phtalimido iodo propanone utilisée a été obtenue à partir de la bromocétone 5 : à 1 mM de cette dernière en solution dans le DME, on ajoute 1 mM d'iodure de sodium. Cette solution est ajoutée à la solution d'organolithien 20 refroidie à $-60^{\circ}C$. La suite des opérations est la même que précédemment (condensation à reflux sans HMPT).

La cétoornithine 27, obtenue dans l'essai 3, a été purifiée par chromatographie préparative sur papier dans le solvant utilisé pour les chromatographies analytiques. Le produit purifié a été caractérisé par son spectre RMN (solvant D_2O , $C = 100$ mg/ml).

D_2O à 5,25 ppm - $\delta = 5,02$ ppm (t - $J = 5,25$ Hz - 1H - CH),
 $\delta = 4,72$ ppm (s - 2H - CH_2), $\delta = 3,95$ ppm (d - $J = 5,25$ Hz - 2H - CH_2).

2 - Emploi de la glycine silylée 28

a) Glycinate de TMS 28

La silylation de la glycine est aisée (29). A 20 g (270 mM) de glycine et 160 g (810 mM) de triméthylsilyl diéthylamine, on ajoute une spatule de sulfate d'ammonium et on chauffe à 120°C. La réaction démarre brutalement et on distille la diéthylamine qui se forme ($E = 70^\circ C$). Cette distillation terminée, on distille la glycine silylée à une température de 104-108°C sous 10 mm (Rendement 70 %). Le distillat est caractérisé par son spectre RMN (sans solvant).

$\delta = 3,42$ ppm (s - 2H - CH_2), $\delta = 0,16$ ppm (s - 9H - $COOSiMe_3$),
 $\delta = 0,00$ ppm (s - 18H - $N(SiMe_3)_2$).

b) Lithio glycinate de TMS 29 et son acylation :

Le mode opératoire est identique à celui utilisé pour l'acétamido malonate de TMS 19, c'est-à-dire lithiation par le n-BuLi à - 60°C et condensation sur le chlorure de benzoyle à cette même température dans le DME. Les trois essais suivants ont été effectués :

Glycinate de TMS <u>28</u>		n-BuLi	* PhCOCl		
1	2,9 g - 10 mM	5 mM	281 mg	2 mM	0 mCi
2	2,9 g - 10 mM	5 mM	281 mg	2 mM	0 mCi
3	2,9 g - 10 mM	5 mM	155 mg	1,27 mM	0,75 mCi

c) Résultats

Les chromatographies sur plaque de gel de silice, dans le solvant : Butanol-Acide acétique-Eau (50 - 25 - 25) et sur papier Whatman n° 1 dans le même système de solvants, montrent qu'il s'est formé trois produits actifs : A, B, C, dont la coloration à la ninhydrine et les Rf (chromatographies sur papier) sont :

Rf		U. V.	Ninhydrine	Activité	°/o d'activité
A	Rf = 0,57	visible	jaune	+	30 °/o
B	Rf = 0,80	visible	violet	+	30 °/o
C	Rf = 0,80	visible	non révélée	+	40 °/o

Le produit A a le même Rf que l'aminocétophénone 23 témoin. C'est donc le produit de réaction attendu. Il représente 30 °/o de l'activité retrouvée (0,3 mCi) soit 12 °/o de l'activité initialement mise en jeu. Le produit C a le même Rf que l'acide hippurique témoin sur les chromato-

graphies sur papier (solvant : Butanol-Acide acétique-Eau (50 - 25 - 25)) et sur les chromatographies sur gel de silice (solvant : Benzène-Acétate d'éthyle 6 - 4).

Les essais 2 et 3 sont ensuite traités par HCl 6N (15 heures à reflux). Les mêmes chromatographies que précédemment montrent que les pics B (produit de double condensation) et C (acide hippurique ¹⁴C) disparaissent et qu'il ne reste plus que deux pics actifs de Rf 0,57 et 0,84 (chromatographies sur papier), correspondant respectivement aux témoins d' α -aminoacétophénone 23 et d'acide benzoïque. Par rapport à l'activité totale retrouvée, l' α -amino acétophénone 23 représente 45 % de cette activité et l'acide benzoïque 55 %.

3 - Emploi d'acide acéturique silylé

a) Acide acéturique silylé

Il est obtenu à partir d'acide acéturique par action du TMCS dans les conditions habituelles. Son spectre RMN est (sans solvant) :

$\delta = 3,75$ ppm (d - J = 4,5 Hz - 2H - CH₂), $\delta = 1,80$ ppm (s - 3H - CH₃), $\delta = 0,00$ ppm (s - 9H - SiMe₃).

b) Résultats

Le mode opératoire reste inchangé. Les rendements en α -amino acétophénone 23 sont décevants et résumés dans le tableau suivant :

	Ester silylé	BuLi	T. de lithiation	PhCOCl		Rdt en $\frac{23}{\equiv}$
1	1,9 g - 10 mM	5 mM	- 60°C	1,8 mM	630 μ Ci	20 %.
2	1,9 g - 10 mM	5 mM	- 60°C	1,8 mM	0 μ Ci	30 %.
3	1,9 g - 10 mM	5 mM	- 15°C	1,8 mM	0 μ Ci	15 %.

Même l'élévation de la température de lithiation n'a pas modifié favorablement le rendement (déterminé par auto-analyseur d'acides aminés pour les essais inactifs 2 et 3).

4 - Emploi de la TFA glycine silylée

a) TFA glycine silylée

La trifluoroacétyl-glycine est synthétisée selon (31) par action de 24 ml d'acide trifluoroacétique et de 7 ml d'anhydride trifluoroacétique, à - 10°C, sur 3 g (40 mM) de glycine et reprécipitée en solution étherée par addition de toluène.

La TFA glycine est silylée selon le processus habituel par le BSA. Le spectre RMN (dans CDCl_3) correspond à :

$\delta = 7,55$ ppm (massif - 1H - NH), $\delta = 3,68$ ppm (s - 2H - CH_2),
 $\delta = 0,00$ ppm (s - 9H - SiMe_3).

b) Résultats

Le mode opératoire est inchangé (lithiation et acylation à - 60°C). Nous avons effectué un essai dans lequel 2 mM de chlorure de benzoyle inactif sont condensés sur le lithien obtenu par action de 4,8 mM de BuLi sur 7,2 mM de TFA glycine silylée pour fournir un rendement en 23 de 20 % (auto-analyseur) par rapport au chlorure de benzoyle initial.

on n'observe

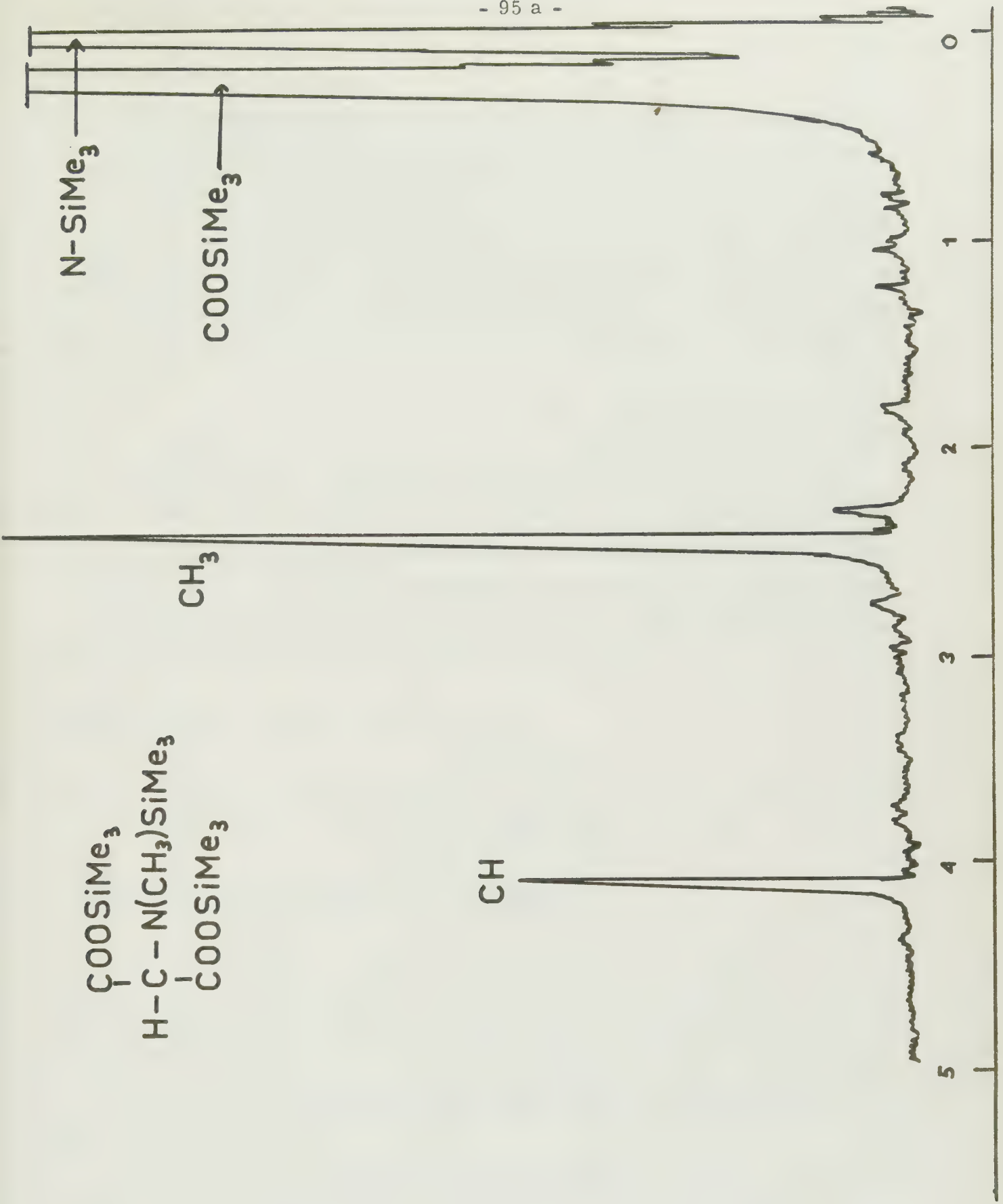
Il est à noter que dans cet essai, aucune impureté aminée, à l'exception de la glycine en fin de réaction.

II - Synthèse d'amines secondaires α -cétoniques

1 - Emploi de l'acide N-méthyl aminomalonique 31

a) Acide N-méthyl aminomalonique 31 (32)

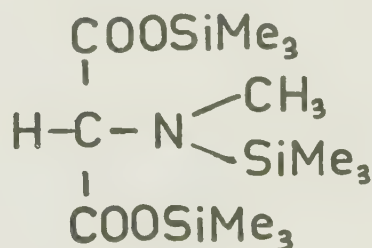
A une solution de 52 g (0,5 M) d'acide malonique dans 500 ml d'acide acétique à 10°C, on ajoute goutte à goutte 80 g (0,5 M) de brome. Après fin d'addition, la solution est évaporée. On obtient un produit cristallisé un peu jaune qui, séché sous vide sur KOH, devient très blanc. Ces cristaux sont solubilisés dans un peu de méthanol. A cette solution refroidie à 0°C, on ajoute 400 ml d'une solution à 30 % en poids de monométhylamine dans le méthanol. Le tout est abandonné 2 jours au réfrigérateur où se produit la précipitation. Le précipité est filtré, lavé au méthanol et séché sous vide (P.F. = 162°C). Il est dissous dans un peu d'eau et on ajoute à 0°C, une mole d'acétate de plomb (380 g) dans environ 1,5 litre d'eau. On laisse reposer une nuit à 0°C. On concentre à environ 1 litre. Au réfrigérateur, on obtient alors une importante précipitation. On filtre. Le précipité est suspendu dans 500 ml d'eau et on fait barboter



de l'hydrogène sulfuré. On filtre le précipité noir qui s'est formé. Ce filtrat est concentré jusqu'à l'obtention d'un important précipité blanc. L'addition d'alcool augmente la précipitation. On filtre et le produit cristallisé blanc obtenu est séché sous vide sur P_2O_5 . Son point de fusion est de $130^\circ C$ (recristallisation à $142^\circ C$ et fusion à $200^\circ C$). Le spectre RMN (D_2O - 100 mg/ml) est réduit au seul signal du CH_3 , singulet centré à 3,26 ppm (D_2O à 5,25 ppm).

b) N-TMS N-méthyl aminomalonate de TMS 32

3 g (10 mM) de l'acide 31 sont silylés par le BSA dans les conditions habituelles, avec un rendement qui ne dépasse pas 30 %. après une heure d'agitation à température ambiante. Le rendement de cette opération est quantitatif si l'essai est chauffé une nuit à reflux. Le spectre RMN est alors en accord avec une molécule tri-silylée, c'est-à-dire qu'un groupe TMS s'est fixé sur l'azote pour donner :



Spectre RMN :

(sans solvant) - $\delta = 4,10$ ppm (s - 1H - CH), $\delta = 2,41$ ppm (s - 3H - CH_3),
 $\delta = 0,20$ ppm (s - 18H - $COOSiMe_3$), $\delta = 0,00$ ppm (s - 9H - N - $SiMe_3$).

c) Résultats

Le mode opératoire reste inchangé.

3,8 mM de l'organolithien 33 sont acylés par 1 mM (1 mCi) de chlorure de vératroyle (^{14}C carboxyle). Les chromatographies après hydrolyse à l'eau sont réalisées sur papier Whatman n° 1 dans le système de solvants : Butanol-Acide acétique-Eau (50 - 25 - 25).

Nous avons constaté que nous avions une seule tache active, dont le Rf différait très peu de celui de la diméthoxyadrénalone 36 témoin, et qui, de plus, n'était pas révélée à la ninhydrine. Ce produit actif 37 a été purifié par chromatographie préparative sur papier dans le même solvant. On obtient ainsi 0,98 mCi de ce composé 37 qui a donc été formé avec un rendement quantitatif. La comparaison entre les spectres RMN de 37 et de la diméthoxyadrénalone 36 témoin est la suivante :

- Composé 37 : (solvant D_2O) - (50 mg/ml)

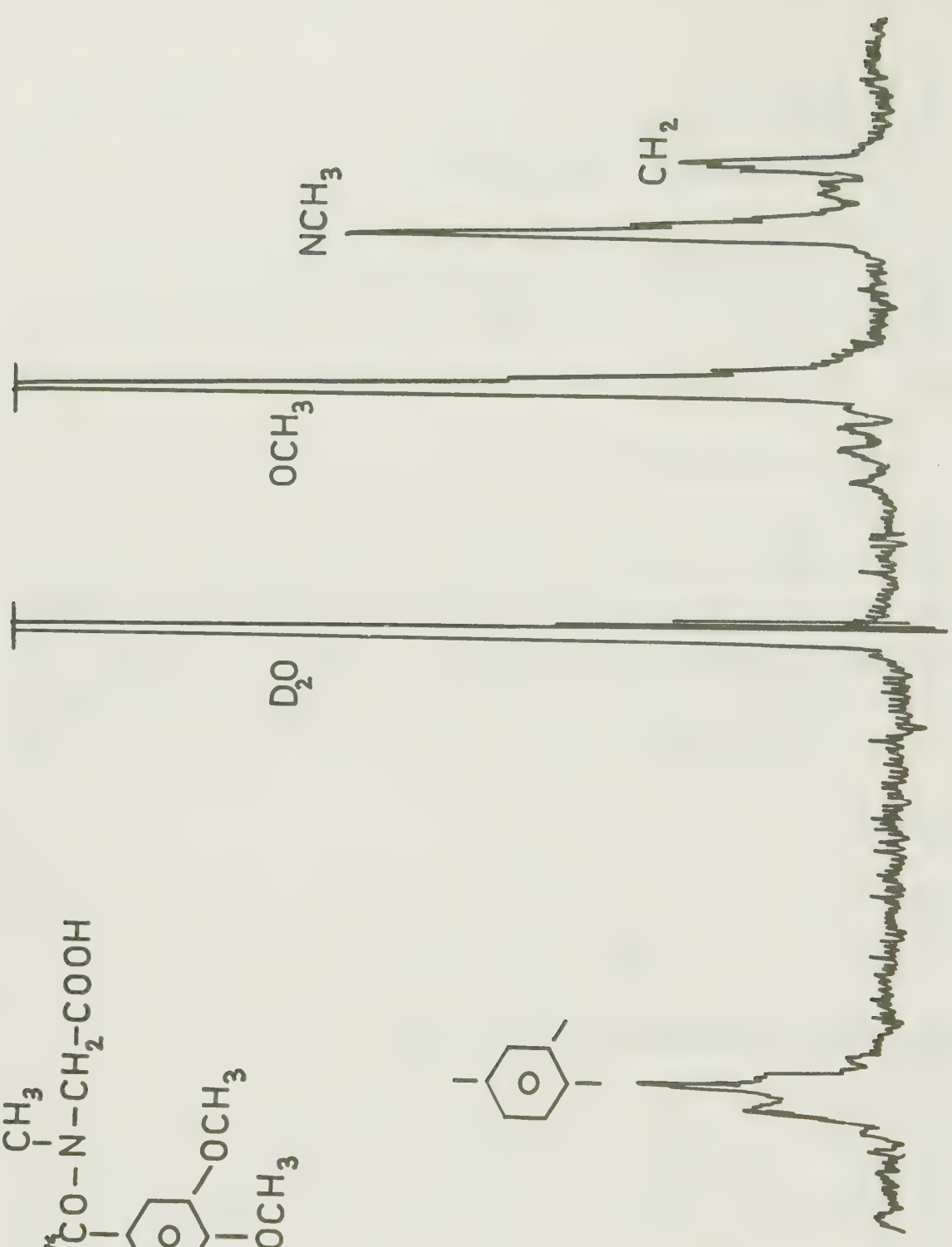
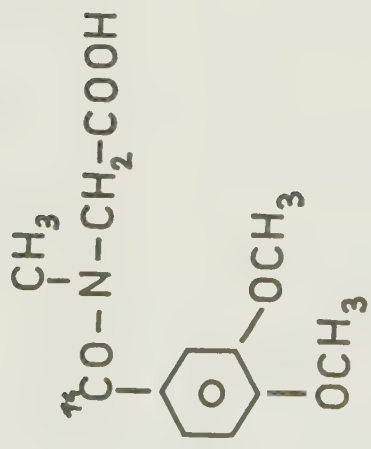
$\delta = 7,38$ ppm et $7,28$ ppm (massifs - $3\text{H} - \text{Ph}$), $\delta = 4,16$ ppm (s - $6\text{H} - \text{OCH}_3$)
 $\delta = 3,48$ ppm (s - $3\text{H} - \text{NCH}_3$), $\delta = 3,18$ ppm (s - $2\text{H} - \text{CH}_2$).

- Diméthoxyadrénalone témoin 36 (solvant D_2O - 50 mg/ml)

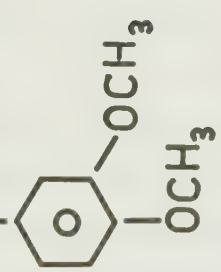
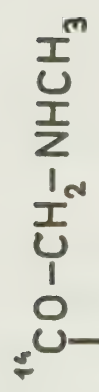
$\delta = 8,09 - 7,92 - 7,60 - 7,45 - 7,30$ ppm (singulets - $3\text{H} - \text{Ph}$),
 $\delta = 5,14$ ppm (s - $2\text{H} - \text{CH}_2$), $\delta = 4,30$ ppm (s - $3\text{H} - \text{OCH}_3$),
 $\delta = 4,24$ ppm (s - $3\text{H} - \text{OCH}_3$), $\delta = 3,38$ ppm (s - $3\text{H} - \text{NCH}_3$).

Les spectres RMN sont très différents, ainsi que les spectres U.V. obtenus dans l'eau :

- composé 37 : deux maxima d'absorption : $280\text{ m}\mu$, $250\text{ m}\mu$,
- diméthoxyadrénalone témoin : trois maxima d'absorption : $302\text{ m}\mu$,
 $274\text{ m}\mu$, $224\text{ m}\mu$.



8	7	6	5	4	3
---	---	---	---	---	---



D₂O

CH₂

OCH₃

NCH₃

3

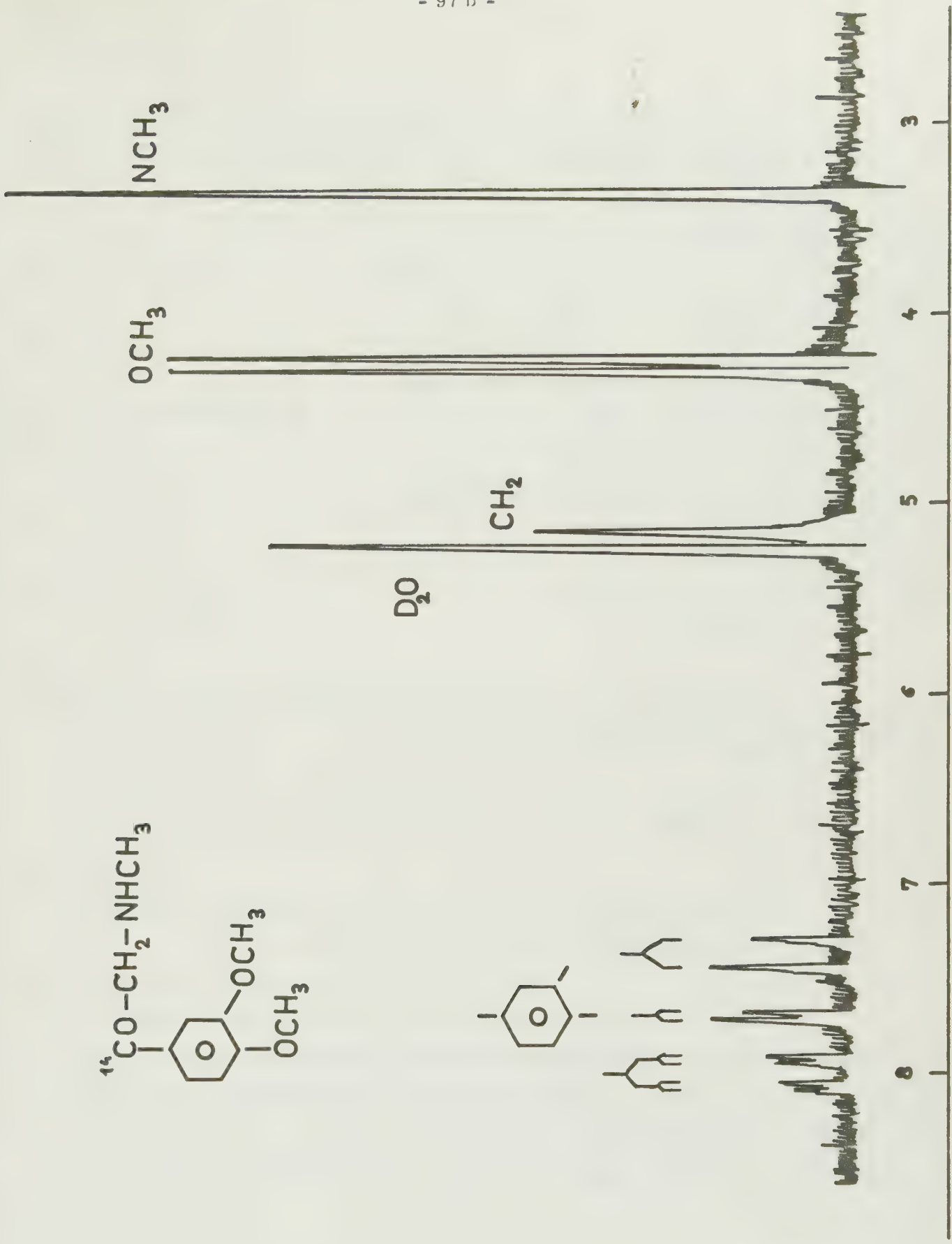
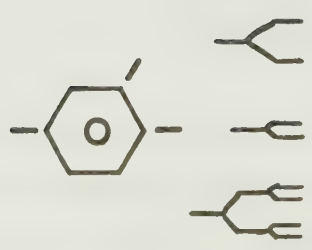
4

5

6

7

8



Le produit actif 37 obtenu conduit, après hydrolyse 15 heures à reflux par l'acide bromhydrique concentré à l'acide protocatéchique(¹⁴C) 37' comme le montrent les chromatographies sur papier Whatman n° 1 dans les solvants suivants :

- Butanol-Acide acétique-Eau (50 - 25 - 25)

. adrénalone	- Rf = 0,46	- orange à la ninhydrine	} non révélés
. acide protocatéchique	- Rf = 0,84		
. essai traceur	- Rf = 0,84		

- t-Butanol-Méthyléthylcétone-Acide acétique-Eau (40 - 30 - 20 - 10)

. adrénalone	- Rf = 0,45	- orange	} non révélés
. acide protocatéchique	- Rf = 0,79		
. essai traceur	- Rf = 0,79		

Le spectre U.V. du produit d'hydrolyse de 37 et celui de l'acide protocatéchique (dans l'eau) sont identiques :

$$\lambda_{\max} = 291 \mu , \quad \lambda_{\max} = 258 \mu$$

d) Essai d'utilisation de l'acide N-méthyl N-acétyl aminomalonique 38 silylé

Pour éviter l'acylation sur l'azote, une méthode consistait à acétyler l'acide N-méthyl aminomalonique 31; c'est ce que nous avons essayé de faire avec l'anhydride acétique en présence de pyridine anhydre dans les conditions suivantes :

	Acide <u>31</u>		Anhydride acétique	Pyridine		Temps de réaction	Température	Résultat
1	500 mg	3, 75 mM	3 ml	0, 3 ml	3, 8 mM	15 mn	90°C	Décarboxylation
2	500 mg	3, 75 mM	3 ml	0, 3 ml	3, 8 mM	24 h	25°C	Produit impur
3	500 mg	3, 75 mM	2 ml	2 ml	25 mM	24 h	25°C	Produit impur
4	2 g	15 mM	6 ml	3 ml	40 mM	24 h	25°C	Produit impur
5	2 g	15 mM	6 ml	1, 7 ml	18 mM	24 h	25°C	Produit impur

Dans les essais 3, 4 et 5, l'excès d'anhydride acétique était détruit prudemment par le méthanol. Les essais ont ensuite été portés à sec, séchés sous vide et silylés par le mélange TMCS-HMDS. C'est le spectre RMN des produits silylés qui a montré la décarboxylation de l'essai 1 et la présence de très nombreuses impuretés pour les autres essais.

Il n'a pas été possible d'acétyler l'acide 31 par le chlorure d'acétyle en présence de pyridine à 0°C.

Pour les essais 4 et 5, nous avons condensé le lithien de 31 sur 1 mM (1 mCi) de chlorure de véatroyle dans les conditions opératoires habituelles. Après hydrolyse bromhydrique nous avons obtenu, d'après l'enregistrement des chromatographies sur papier (solvants cités précédemment) :

- acide protocatéchique	70 %.
- adrénalone	30 %.

2 - Utilisation de N-acétyle sarcosine silylée 39

a) N-acétyle sarcosine

10 g (112 mM) de sarcosine en solution dans 30 ml d'eau sont traités par 30 ml (260 mM) d'anhydride acétique. On note une forte élévation de température. Après 20 minutes d'agitation, la solution est évaporée. Le résidu solide et jaunâtre obtenu est séché sous vide sur potassé, puis recristallisé dans le mélange : Acétate d'éthyle-Ethanol (50 - 50). Son point de fusion est de 135°C et son spectre RMN a l'aspect suivant (réalisé dans D₂O) :

D₂O à 4,75 ppm - $\delta_a = 4,22$ ppm et $\delta_{a'} = 4,08$ ppm (s - 2H - CH₂),
 $\delta_b = 2,88$ ppm et $\delta_{b'} = 3,05$ ppm (s - 3H - NCH₃), $\delta_c = 2,00$ ppm et
 $\delta_{c'} = 2,10$ ppm (s - 3H - COCH₃).

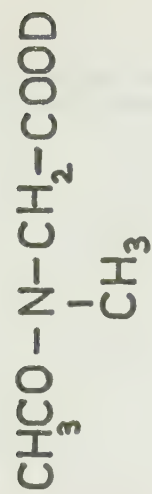
En comparaison, nous donnons le spectre de la sarcosine dans les mêmes conditions :

D₂O à 5,25 ppm - $\delta = 3,98$ ppm (s - 2H - CH₂), $\delta = 3,10$ ppm
(s - 3H - NCH₃).

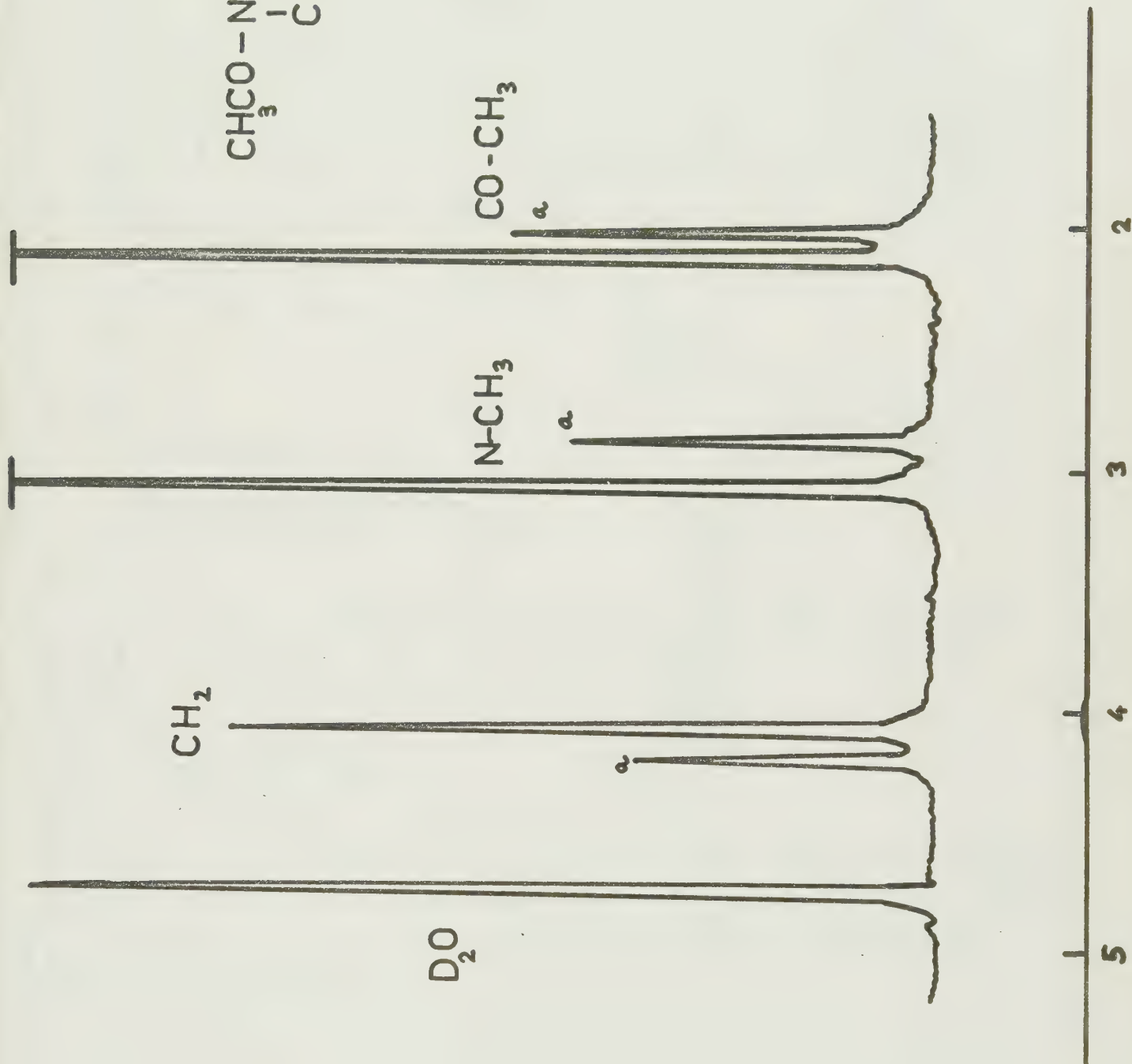
Nous sommes donc en présence de deux formes non équivalentes de N-acétyle sarcosine, soient F et F' dans les pourcentages de :

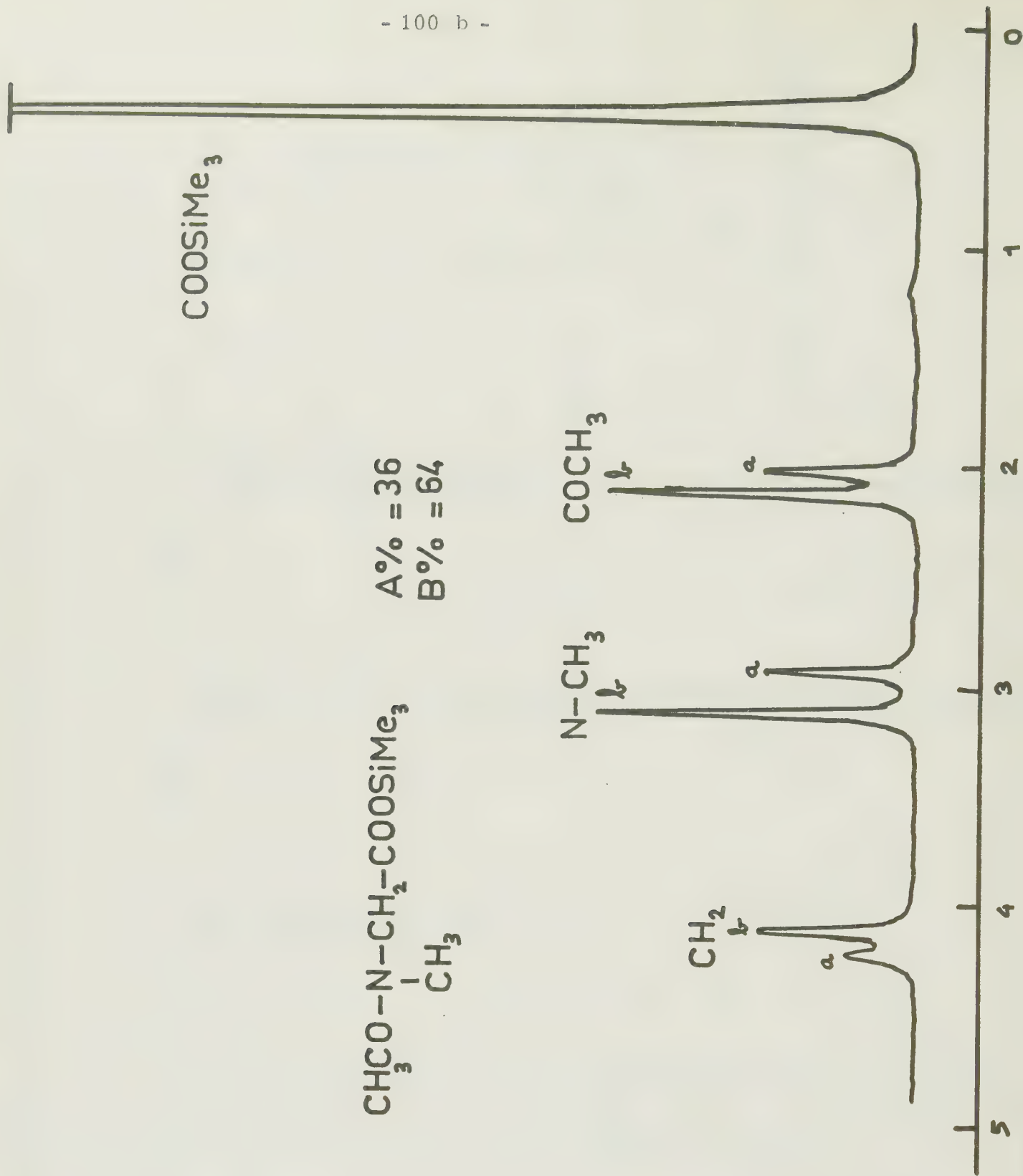
$$F \% = 30 \%$$

$$F' \% = 70 \%$$



A% = 30
B% = 70





alors que nous n'avons qu'une seule forme pour la sarcosine ou l'acide acéturique . Les différents spectres RMN pris dans des conditions analogues en faisant varier la température de 0° à 100°, de 10 degrés en 10 degrés, montrent qu'à 80°C les singulets (a) et (a') se confondent en un seul singulet, le reste du spectre étant inchangé. Dans le même temps, LOVE et coll. (33) ont calculé d'après les spectres RMN les paramètres cinétiques du mécanisme d'isomérisation de l'acétyl sarcosine donnant deux formes non équivalentes. Ils en ont déduit qu'il s'agit d'une rotation interne bloquée par un caractère partiel de double liaison de la liaison C-N.

b) N-acétyl sarcosinate de TMS 39

Il est obtenu sous forme d'une huile incolore avec un rendement de 90 % par action du mélange HMDS-TMCS dans les conditions habituelles. Son spectre RMN (sans solvant) comporte toujours les deux formes F et F' dans des pourcentages respectifs de 36 % et de 64 % .

$\delta_a = 3,82$ ppm et $\delta_{a'} = 3,72$ ppm (s - 2H - CH₂), $\delta_b = 2,52$ ppm et $\delta_{b'} = 2,71$ ppm (s - 3H - CH₃), $\delta_c = 1,60$ ppm et $\delta_{c'} = 1,70$ ppm (s - 3H - CH₃), $\delta = 0,00$ ppm (s - 9H - SiMe₃).

c) Résultats

Le mode opératoire reste inchangé. L'hydrolyse des groupements TMS est suivie d'une hydrolyse acide (15 heures à reflux) par l'acide bromhydrique à 48 % pour obtenir l'adrénalone. Les essais sont résumés dans le tableau ci-dessous.

	Ester silylé <u>39</u>		n-BuLi	Chlorure de vératroyle	Tempér. de lithiation	Rdt en adrénalone
1	1,624 g	8 mM	5 mM	2 mM - 0 mCi	- 70°C	0 %.
2	1 g	4,9 mM	3,2 mM	2 mM - 0 mCi	- 10°C	Deutéro- lyse
3	1,5 g	7,5 mM	4,7 mM	1 mM - 1 mCi	- 10°C	0 %.
4	1,5 g	7,5 mM	4,7 mM	1 mM - 0 mCi	- 10°C	0 %.
5	1,6 g	8 mM	4,5 mM	1 mM - 0 mCi	- 10°C	0 %.

d) Utilisation de la trifluoroacétyl sarcosine silylée

7,12 g (80 mM) de sarcosine sont traités par 48 ml d'acide trifluoroacétique et 14 ml d'anhydride trifluoroacétique. On obtient ainsi une huile jaune clair dont nous avons fait le spectre RMN dans CCl_4 (100 mg/ml).

$\delta = 11,60$ ppm (s - 1H - COOH), $\delta = 4,20$ ppm (s - 2H - CH_2),
 $\delta = 3,30$ ppm (s) et $\delta = 3,16$ ppm (s) (3H , N - CH_3).

A nouveau, deux formes équivalentes apparaissent au niveau des signaux du groupe méthyle.

La silylation est réalisée de la façon habituelle par le BSA sur 3 g d'acide. Le spectre RMN du TFA sarcosinate de TMS réalisé dans CDCl_3 (concentration 10 %) correspond à :

$\delta = 3,79 \text{ ppm (s - 2H - CH}_2\text{)}$, $\delta = 2,88 \text{ ppm (s)}$ et
 $\delta = 2,76 \text{ ppm (s) (3H - CH}_3\text{)}$, $\delta = 0,00 \text{ ppm (s - 9H - COOSiMe}_3\text{)}$.

Dans les conditions opératoires identiques à celles utilisées pour l'acétyle sarcosinate de TMS, nous avons essayé de condenser 4,4 mM du dérivé lithié du TFA sarcosinate de TMS (obtenu à partir de 6,2 mM - 1,6 g de TFA sarcosinate de TMS par action de 4,4 mM de BuLi) sur 1 mM de chlorure de véatroyle ayant une activité de $100 \mu\text{Ci}$. Nous n'avons pas obtenu d'adrénalone.

CHAPITRE V

SYNTHESE D'ADRENALONE (^{14}C -7)

I - Utilisation de la monométhylamine silylée 45

- Schéma réactionnel (tableau n° 8 - p. 105)

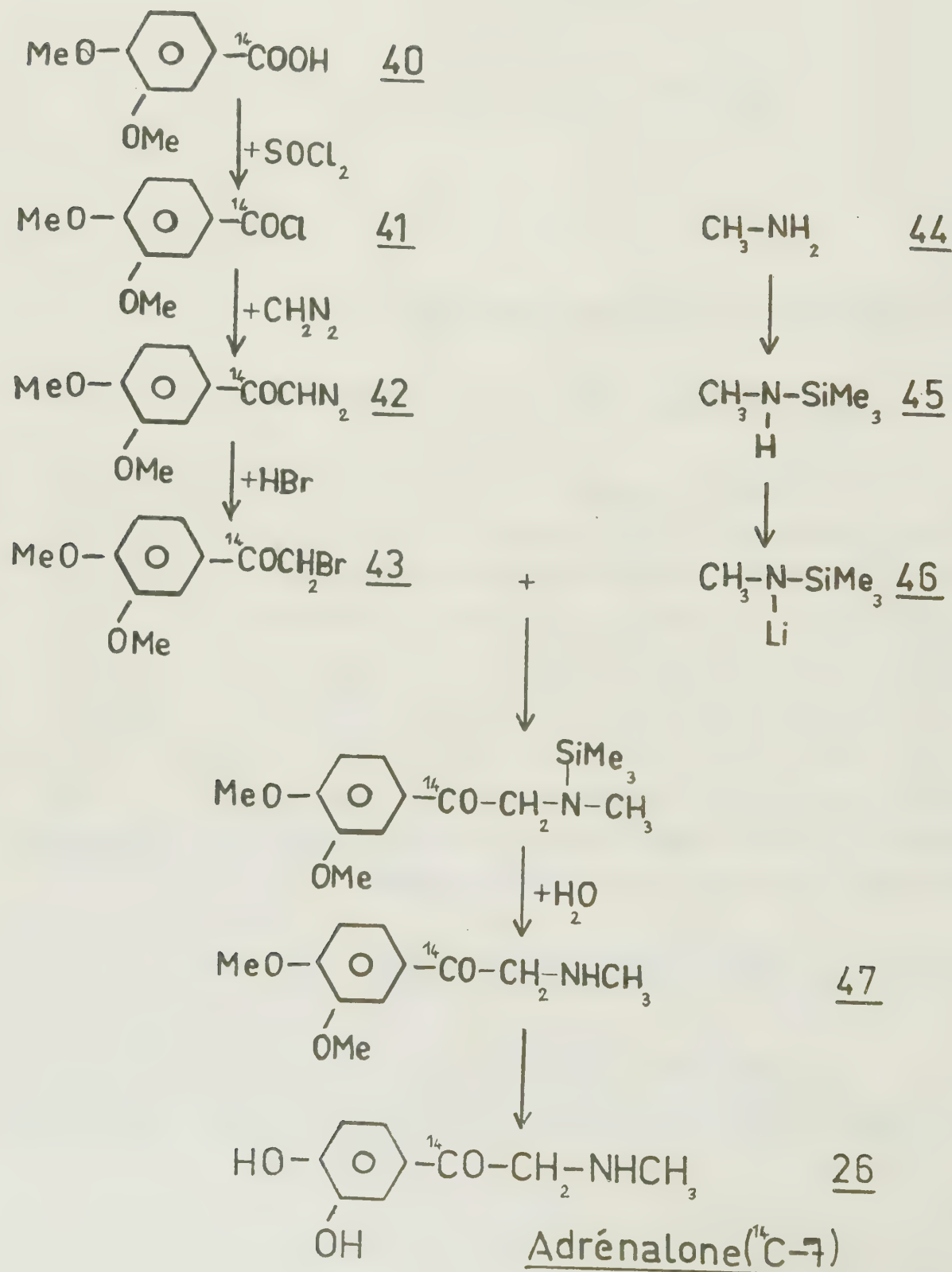
Il s'agit d'une modification de la méthode déjà décrite dans le chapitre précédent (145) qui consiste à condenser avec un rendement de 80 °/o la bromo-1 (diméthoxy-3,4 phényl)-3 propanone-2 43 dérivée du chlorure de vératroyle 41 par synthèse Arndt-Eistert, sur la monométhylamine anhydre 44 dans l'éther. Le rendement final est alors de 30-35 °/o. Nous avons essayé de déterminer l'influence de la silylation et de la lithiation de la monométhylamine 44 sur la condensation. Cette dernière méthode nous a aussi conduit à un rendement de 30 °/o en adrénalone (^{14}C -7) par rapport à l'acide vératrique initial. Elle présente donc peu d'intérêt par rapport à l'ancienne méthode.

II - Utilisation du N-TMSN- méthyl acétamide : $\text{CH}_3\text{-CO-N(CH}_3\text{)-SiMe}_3$

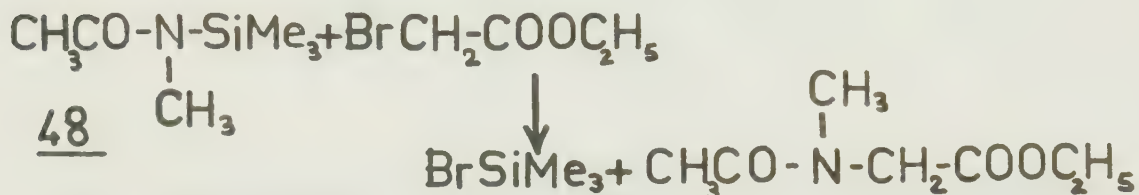
KRICHELDORF et GREBER (36) ont condensé un certain nombre d'halogénures d'alcoyle sur 48, la condensation se faisant avec un départ

TABLEAU n° 8

Synthèse d'adrénalone(¹⁴C-7) utilisant le dérivé lithié de la monométhylamine silylée



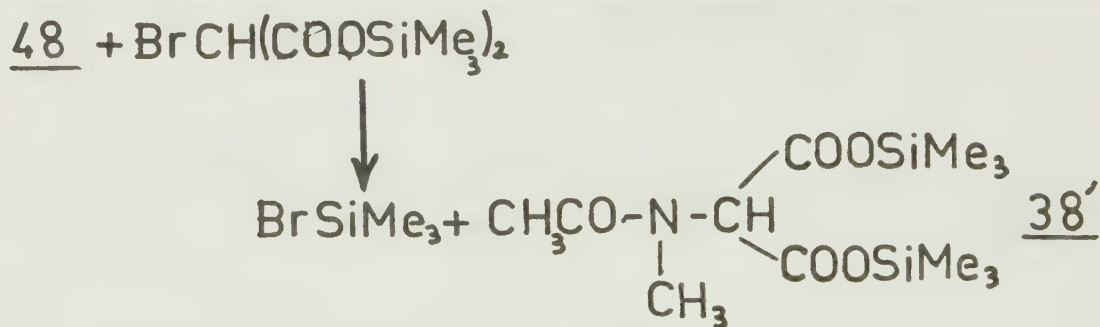
du groupe TMS sous forme de BrSiMe_3 . Cette réaction n'est pas sans présenter certaines analogies avec la réaction que nous avons nous-mêmes observée en utilisant le méthylaminomalonate de TMS 32 (condensation sur l'azote d'un chlorure d'acide après départ d'un groupe silylé). Plus particulièrement, les auteurs ont réalisé la synthèse suivante :



Pour notre cas, cette réaction ouvrirait deux voies nouvelles de synthèse de l'adrénalone(^{14}C .)

A - Synthèse au moyen du N-Méthyl N-Acetyl aminomalonate de TMS 38'

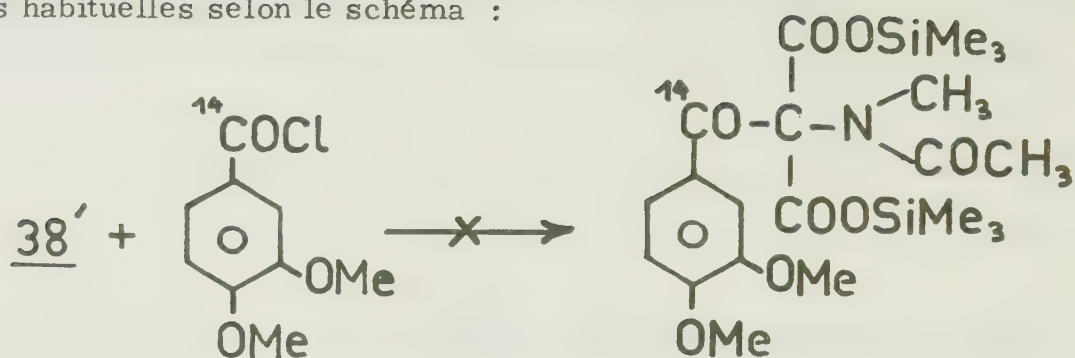
Nous n'avions pas pu obtenir cet ester silylé 38' par acétylation de l'acide N-méthyl aminomalonique 38 suivie d'une silylation (voir page 99). L'application de la réaction ci-dessus écrite au bromomalonate de TMS devrait nous fournir le produit attendu selon le schéma réactionnel :



Le spectre RMN semble indiquer qu'on a effectivement obtenu 38'.

Le malonate de TMS 38' a été lithié par action du n-BuLi à - 60°C dans le DME puis opposé au chlorure de véatroyle 41 dans les

conditions habituelles selon le schéma :



L'analyse chromatographique des deux essais effectués, après hydrolyse bromhydrique, a montré la seule présence d'acide protocaté-chique (^{14}C), ce qui indique que la condensation n'a pas eu lieu. Le spectre RMN du produit de deutérollyse du lithien n'a pu fournir aucune indication sur le pourcentage de lithiation obtenu car le signal correspondant au proton malonique a bien complètement disparu, mais ce proton est direc-tement échangeable par simple dissolution dans l'eau lourde. En conclusion, nous n'avons pas dû obtenir 38' comme le spectre RMN pouvait le laisser supposer.

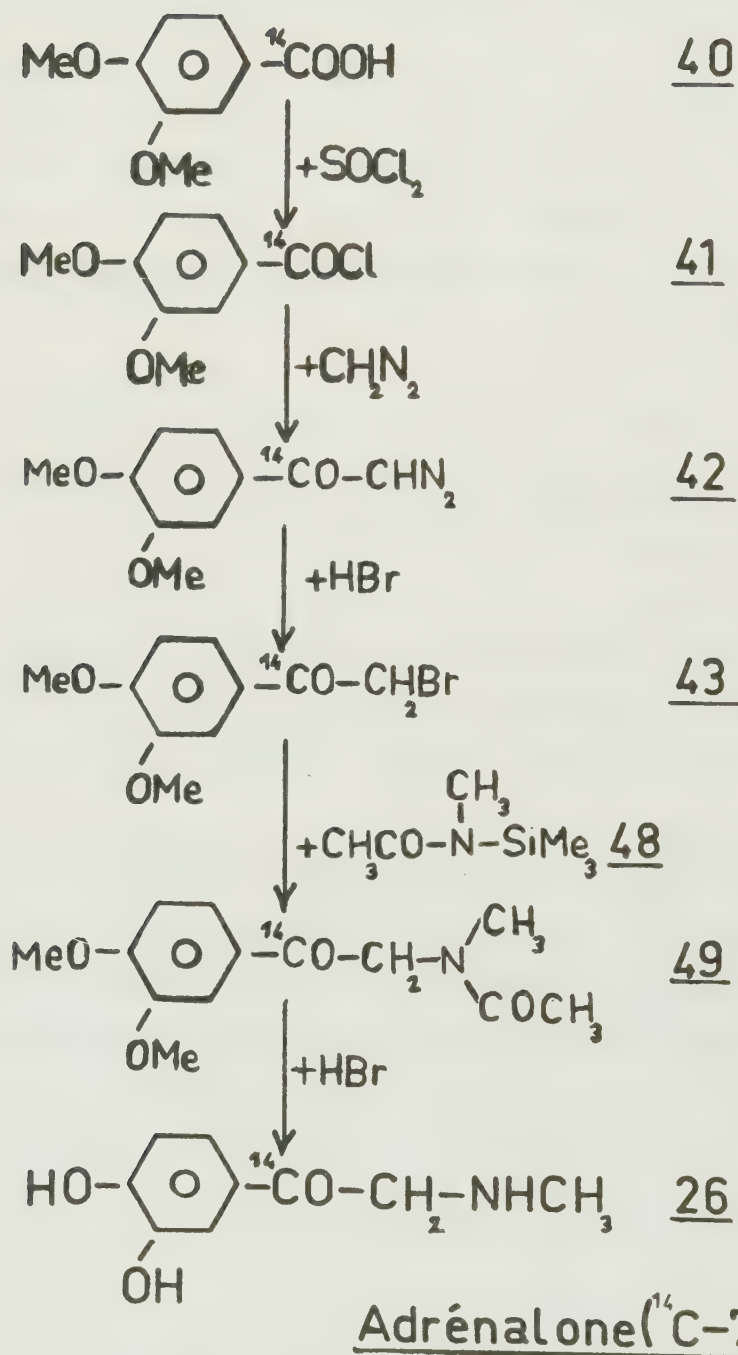
B - Obtention d'adrénalone (^{14}C -7) au moyen du N-TMSN - méthyl
acétamide 48

Nous avons adapté les résultats obtenus par KRICHELDORF et GREBER (36) sur un ester α - bromé.

Le schéma réactionnel est représenté sur le tableau n° 9 ¹⁰⁸. Il consiste à condenser la bromo-1 (diméthoxy-3-4 phényl)-3 propanone -2 ⁴³ sur 48, avec départ d'un groupe TMS.

Les résultats des essais traceurs sont résumés dans le tableau n° 10.

Synthèse d'adrénalone(¹⁴C-7) utilisant le N-Me N-TMS acétamide



Nous avons constaté que les rendements en adrénalone(^{14}C) dépendaient beaucoup du solvant dans lequel est effectuée la condensation, de la température, du temps de réaction et enfin des excès de réactifs mis en oeuvre. Dans des essais traceurs, nous avons évalué le rendement en adrénalone (^{14}C) d'après l'enregistrement des chromatographies.

Nous voyons que des solvants tels que le DMF ou le HMPT ne sont pas favorables à la condensation. Toutefois, dans le DMF, la presque totalité de la bromocétone $\underline{\underline{43}}$ réagit, alors qu'avec le HMPT on retrouve 50 % de l'activité sous forme du produit d'hydrolyse bromhydrique de la bromocétone (^{14}C) $\underline{\underline{43}}$.

Un excès de dérivé silylé favorise la réaction. C'est dans le DME qu'on a obtenu les meilleurs résultats, la condensation ayant lieu à pression ordinaire, durant 15 heures et à reflux (80°C).

Cette méthode nous permet donc de synthétiser l'adrénalone (^{14}C) avec un rendement de 60 % environ par rapport à la bromocétone, donc de 50 % environ par rapport à l'acide vératrique initial.

Par une simple réduction quantitative de l'adrénalone (^{14}C -7), l'adrénaline (^{14}C -7) est ainsi obtenue avec un rendement de 50 % par rapport à l'acide vératrique (^{14}C) initial, alors que le rendement le plus élevé par les méthodes connues jusqu'à ce jour était de 30-35 % (145).

PARTIE EXPERIMENTALE

I - Utilisation de la monométhylamine silylée

1 - N-TMS N-méthylamine 45

Nous avons modifié le mode opératoire décrit dans (35).

Dans un ballon de 50 ml refroidi à - 30°C, on conserve 15 ml (440 mM) de monométhylamine 44 (bombe Mathéson). Sous courant d'azote et rapidement, on la transvase dans un ballon refroidi aussi à - 30°C, agité mécaniquement et contenant initialement 150 ml d'éther anhydre. A cette même température, on ajoute 25 ml de TMCS (200 mM). La précipitation est très importante. On agite durant 3 heures tout en laissant remonter la température. Puis on abandonne le ballon une nuit à température ambiante, l'excès de monométhylamine s'échappant par une garde à chlorure de calcium surmontée d'un barboteur. On filtre en boîte à gants, puis le filtrat est distillé. La monométhylamine silylée 45 distille entre 69 et 71°C à pression ordinaire. On obtient 8 g (80 mM) de produit (rendement 40 %) dont le spectre RMN est conforme à la structure (sans solvant).

$\delta = 2,43$ ppm (s - 3H - NCH_3), $\delta = 0,00$ ppm (s - 9H - SiMe_3).

2 - Bromo-1 (diméthoxy-3,4 phényl)-3 propanone-2 43 (145)

1 mM (182 mg) d'acide vératrique(¹⁴C) 40 est traitée à reflux par 3 ml de chlorure de thionyle (fraîchement distillé) durant 2 heures. On porte bien à sec et on sublime le chlorure de vératroyle 41 sous vide secondaire, à 80°C. Le chlorure 41 est repris dans 10 ml d'éther anhydre et à 0°C, en l'absence d'humidité, on ajoute 4 mM (excès de 100 %) de diazométhane en solution étherée (séchée sur KOH). On abandonne une nuit au réfrigérateur puis on porte à sec. On reprend cette diazocétone 42 par 10 ml d'acide acétique et on ajoute 0,5 ml d'acide bromhydrique fraîchement distillé. La réaction est immédiate. On porte bien à sec. Il reste une huile noirâtre, que l'on dissout dans 2 ml d'acétone. On ajoute de l'eau jusqu'à début de précipitation de la bromocétone 43 et on porte à nouveau à sec, prudemment. Le composé a cette fois un aspect cristallin. On le purifie par passage sur une colonne de gel de silice WOELM (de partage), l'élution étant réalisée par le chlorure de méthylène. Le produit est repéré par l'enregistrement de l'activité en sortie de colonne. En rassemblant les tubes voulus, et en portant à sec, on obtient la bromocétone(¹⁴C) 43 avec un rendement de 80 % par rapport à l'acide vératique(¹⁴C) 40.

3 - N-TMS N-lithio méthylamine 46 et sa condensation sur 43

800 mg (8 mM) de monométhylamine silylée 45 en solution dans 10 ml d'éther anhydre, sont refroidis à - 40°C et traités par 4 mM de butyllithium en solution dans hexane-éther pour obtenir 46. On agite 10 minutes à cette température et toujours à - 40°C, on ajoute goutte à goutte 1 mM de bromocétone(¹⁴C) 43 en solution dans 50 ml de DME anhydre. On laisse la température remonter puis on agite une nuit à température ambiante. On hydrolyse par 20 ml d'acide chlorhydrique 6 N.

L'essai est porté à sec et hydrolysé par 20 ml d'acide bromhydrique à 48 °/° (15 heures à reflux).

4 - Résultats

L'enregistrement du chromatogramme, sur papier Whatman n° 1 dans le solvant Butanol-Acide acétique-Eau (50 - 25 - 25) (révélation par U.V. et ninhydrine), et une mesure de radioactivité indiquent un rendement en adrénalone(¹⁴C) de 30 °/°.

Ce rendement est pratiquement équivalent à celui obtenu lors de la condensation sur la monométhylamine non silylée. Or nous cherchions à obtenir un rendement nettement supérieur. Aussi avons-nous étudié une autre voie de synthèse, qui s'est révélée plus satisfaisante.

II - Utilisation du N-TMS N-méthyl acétamide 48

A - Essais infructueux de synthèse d'adrénalone(¹⁴C-1) au moyen du N-méthyl N-acétyl aminomalonate de TMS 38'

1 - N-Méthyl N-Acétyl aminomalonate de TMS 38'

16 g (87,5 mM) d'acide bromomalonique sec sont silylés par le mélange TMCS-HMDS (100 ml - 100 ml). On agite une nuit à température ambiante et après filtration on porte à sec pour obtenir avec un rendement quantitatif le bromomalonate de TMS.

Spectre RMN (sans solvant) : $\delta = 4,52$ ppm (s - 1H - CH),
 $\delta = 0,00$ ppm (s - 18H - SiMe₃).

Puis, en l'absence d'humidité, on mélange dans un ballon 14,35 g (44 mM) de bromomalonate de TMS et 6,38 g (44 mM) de N-TMS N-Méthyl acétamide 48. Le ballon est surmonté d'une colonne à distiller, elle-même reliée à une rampe à vide, tout l'appareillage étant sous atmosphère d'azote. On chauffe le mélange réactionnel à 100°C à pression ordinaire durant 10 minutes, puis on diminue progressivement la pression pour obtenir un vide partiel de 11 cm. On chauffe alors une heure à 100°C sous cette pression partielle. On laisse refroidir et on distille sous vide primaire. On distille ainsi entre 80 et 82°C, 10 g de 38 (Rdt = 70 %) sous forme de liquide incolore.

Spectre RMN (sans solvant) - $\delta = 3,00$ ppm (s - 1H - CH), $\delta = 2,50$ ppm (s - 3H - CH₃), $\delta = 1,70$ ppm (s - 3H - CH₃), $\delta = 0,00$ ppm (s - 18H - SiMe₃).

Ce spectre semble être en accord avec la structure.

2 - Résultats

Les conditions de lithiation (action du n-BuLi à - 60°C) et de condensation (chlorure de veratroyle dans le DME) sont celles habituellement mises en oeuvre. Les résultats des deux essais suivants sont obtenus par chromatographie (papier W₁ - solvant : Butanol-Acide acétique-Eau (50 - 25 - 25)) de la solution hydrolysée par l'acide bromhydrique concentré (15 heures à reflux).

	Ester silylé <u>38'</u>		n-BuLi	Chlorure de véatroyle			Rdt en adrénalone
1	2,24 g	7 mM	4 mM	218,5 mg	1 mM	0, mCi	0 %.
2	2,24 g	7 mM	4 mM	218,5 mg	1 mM	0,1 mCi	0 %.

B - Obtention d'adrénalone (^{14}C -7) au moyen du N-TMS N-Méthyl
acétamide 48

1 - Bromo-1 (diméthoxy-3,4 phényl)-3 propanone-2 43

La préparation de ce composé a été décrite page 111

2 - Adrénalone (^{14}C -7)

En boîte à gants, le N-TMS N-méthyl acétamide 48, en solution dans le solvant choisi, est ajouté à la bromocétone (^{14}C) 43. Le mélange réactionnel est alors chauffé sous courant d'azote à la température choisie, sous la pression désirée, durant un temps de réaction variable entre 1 et 24 heures selon les essais. Puis on arrête le chauffage et on porte bien à sec à l'évaporateur rotatif. On réalise ensuite une hydrolyse acide de 15 heures à reflux par l'acide bromhydrique à 48 % fraîchement distillé. On porte à sec, on reprend à l'eau et on filtre sur fritté. On obtient une solution très colorée sur laquelle sont effectués les comptages et les chromatographies sur papier Whatman n° 1 dans le solvant : Butanol-Acide acétique-Eau (50 - 25 - 25).

3 - Essais traceurs

Les résultats de ces essais sont résumés dans le tableau n° 10 (p 115)

4 - Essai actif

1 mM (50 mCi) d'acide vératrique (carboxyle ^{14}C) 40 est transformée en bromo-1 (diméthoxy-3,4 phényl)-3 propanone-2 43 (0,82 mM - 41 mCi), qui est utilisée sans purification.

TABLEAU n° 10

Essais traceurs pour la synthèse d'adrénalone (^{14}C - 7)

Essai n°	R COCH_2Br $\frac{43}{2}$		N-TMS N-Me a cétamide $\frac{43}{2}$		Solvant V = 2 ml	Tempé- rature	Temps	Pression	% bromo- cétone $\frac{43}{2}$ n'ayant pas réagi	Rendement en adrénalone
1	2 mM	450 μ Ci	0,5 ml	3 mM	sans	100°C 100°C	1 h 4 h	760 mm 110 mm	40 %	20 %
2	1 mM	340 μ Ci	0,3 ml	1,9 mM	sans	25°C	24 h	ordinaire	31 %	25 %
3	1 mM	340 μ Ci	2 ml	13 mM	sans	25°C	24 h	-	20 %	25 %
4	1 mM	340 μ Ci	2 ml	13 mM	DME	80°C	15 h	-	38 %	62 %
5	1 mM	340 μ Ci	0,2 ml	1,3 mM	DME	80°C	15 h	-	29 %	39 %
6	1 mM	250 μ Ci	3 ml	19,5 mM	toluène	100°C	15 h	-	20 %	50 %
7	1 mM	250 μ Ci	2 ml	13 mM	DME	80°C	5 h	-	20 %	20 %
8	1 mM	250 μ Ci	2 ml	13 mM	DME + 15% HMPT	80°C	15 h	-	50 %	25 %
9	1 mM	250 μ Ci	2 ml	13 mM	diglyme	120°C	20 h	-	60 %	30 %
10	1 mM	250 μ Ci	3 ml	19,5 mM	diglyme	100°C	15 h	300 mm	10 %	45 %
11	0,5 mM	125 μ Ci	1 ml	7,5 mM	DMF	100°C	15 h	ordinaire	15 %	15 %
12	0,5 mM	125 μ Ci	1 ml	7,5 mM	benzène	80°C	15 h	-	20 %	55 %

La condensation sur 2 ml (13 mM) de N-TMS N-méthyl acétamide 48 a été effectuée dans 2 ml de DME anhydre et deperoxydé (15 heures à 80°C). En fin de réaction, on retrouve 38 mCi, dont 35 % (13,4 mCi) correspondent à l'adrénalone (^{14}C). Le rendement global enadrénalone (^{14}C) est donc de 27 %, soit une valeur plus faible que celle obtenue dans les essais traceurs. Nous pensons que cette différence est due aux impuretés de la bromocétone utilisée.

Cet essai a été purifié par chromatographie sur une colonne de résine Dowex 50 W X12 avec élution par l'acide chlorhydrique (0,1 à 0,5 N).

CHAPITRE VI

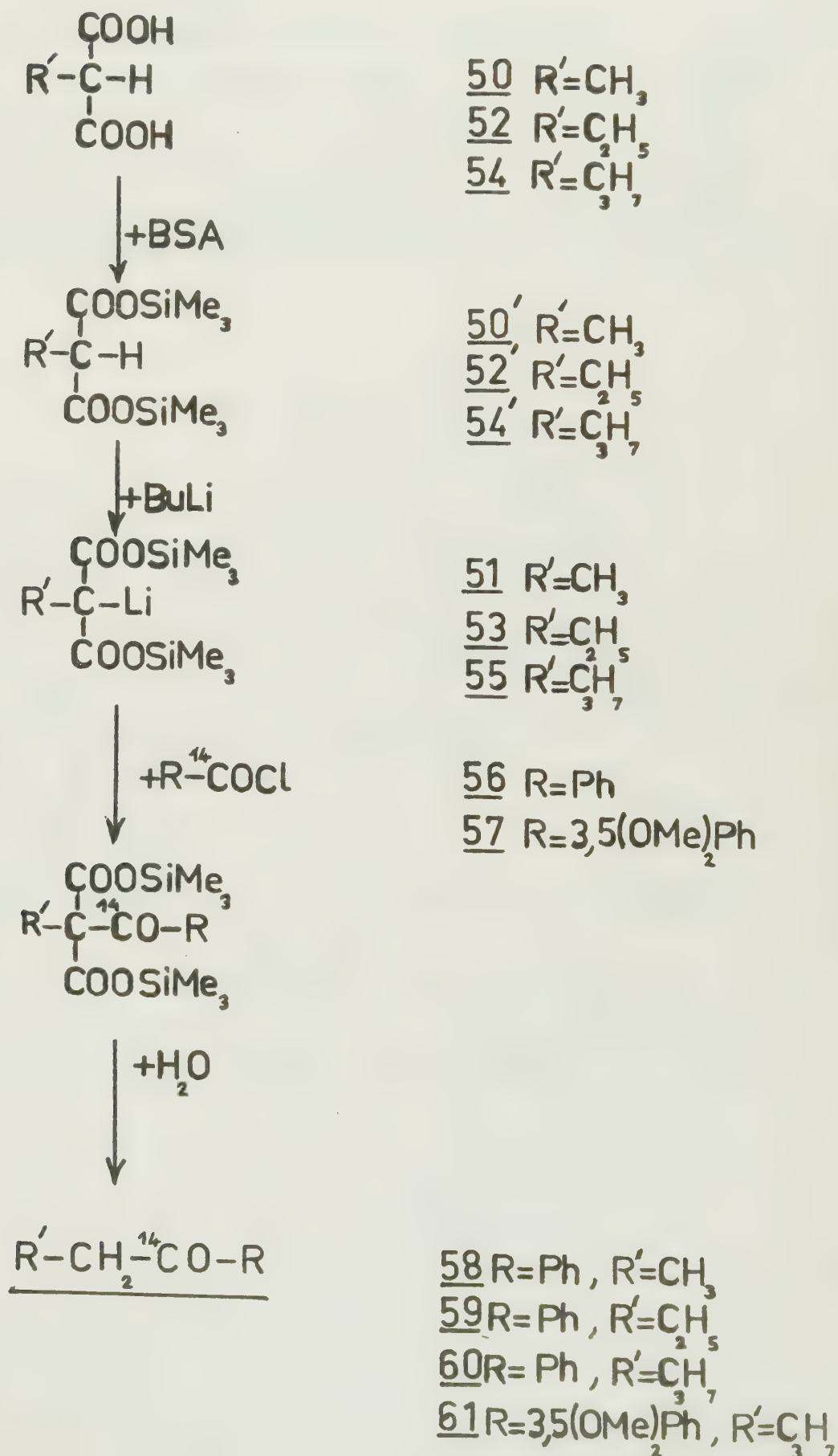
GENERALISATION DE L'EMPLOI DU MALONATE DE TMS POUR LA SYNTHESE DE CETONES(¹⁴C) A PARTIR D'ACIDES CARBOXYLIQUES(¹⁴C)

- Schéma général

Il s'agit d'une application directe de la méthode exposée au Chapitre II qui permettrait l'obtention de δ -AAL(¹⁴C) au moyen de malonate de TMS. Le schéma réactionnel général est représenté sur le tableau n° 11 (p. 118)

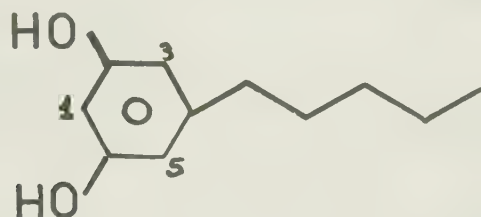
Notre méthode est simple et bien adaptée aux synthèses radio-actives. Nous avons obtenu diverses cétones avec un excellent rendement. La longueur de la chaîne du chlorure d'acide est choisie en fonction du nombre d'atomes de carbone du groupe alcoyle que l'on veut greffer. Le tableau ci-dessous résume les synthèses effectuées :

R	R'	Produit obtenu	Rdt final
Ph	CH ₃	Propiophénone <u>58</u>	80 %.
Ph	C ₂ H ₅	Butyrophénone <u>59</u>	75 %.
Ph	C ₃ H ₇	Phényl' -1 pentanone-1 <u>60</u>	87 %.
3, 5(OMe) ₂ Ph	C ₃ H ₇	(Diméthoxy-3, 5 phényl) -1 pentanone-1 (¹⁴ C-1) <u>61</u>	90 %.

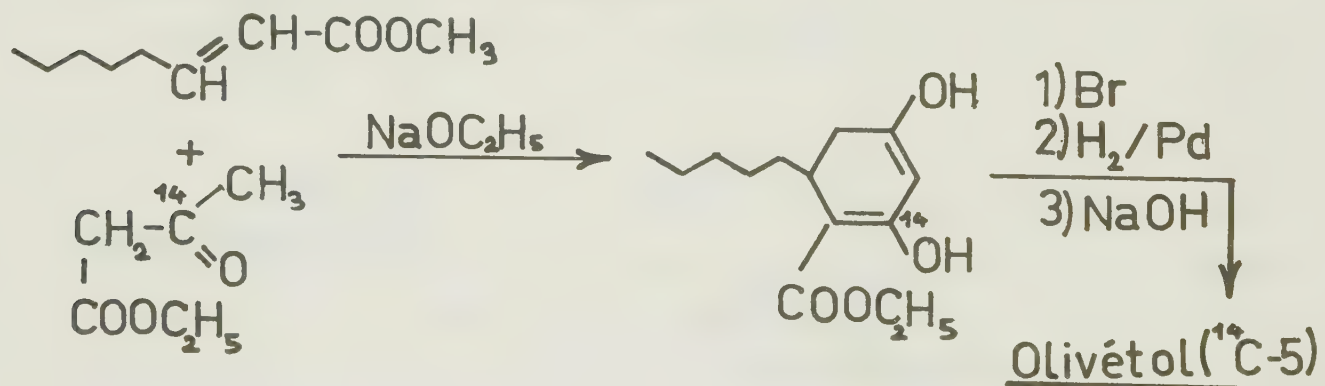
Synthèse de cétones(^{14}C) utilisant le malonate de TMS

Les rendements sont élevés et cette méthode nous paraît susceptible de nombreuses applications.

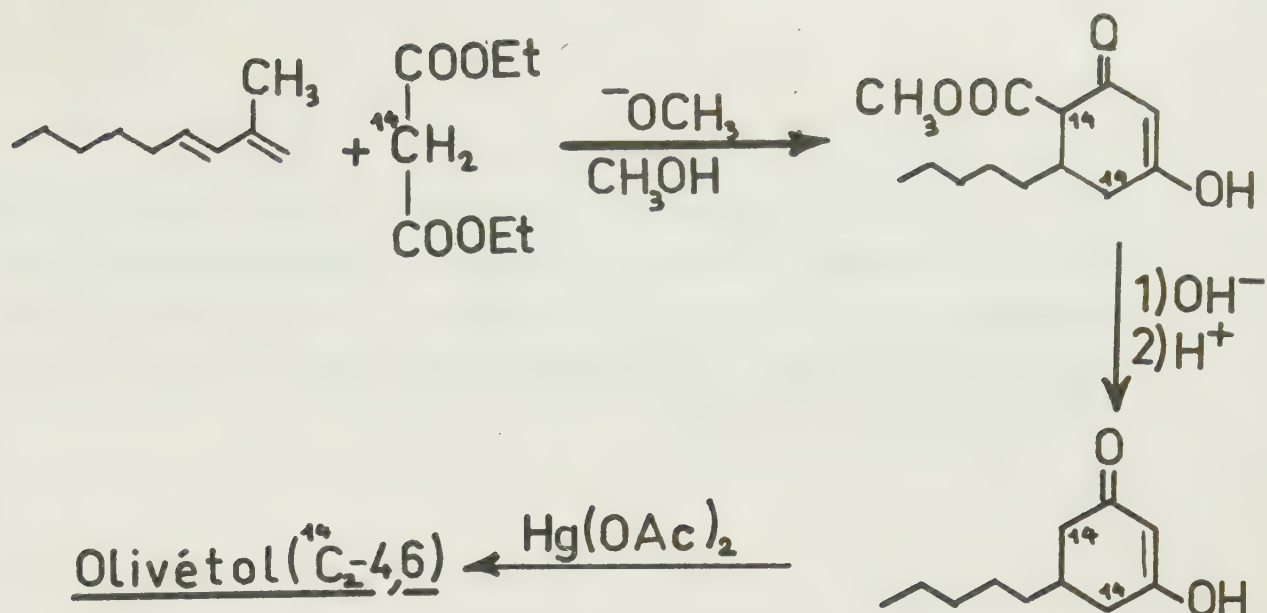
La (diméthoxy-3,5 phényl)-1 pentanone-1 (^{14}C -1) 61 est une cétone bien connue car il s'agit d'un produit intermédiaire de la synthèse de l'olivétol (^{14}C). Ce dernier composé est un réactif indispensable à la préparation de Δ^8 -et Δ^9 -tétrahydrocannabinols (^{14}C), requis pour des études métaboliques de ces constituants de la marijuana. Il existe assez peu de synthèses chimiques d'olivétol (^{14}C) :



NILSON et coll. (146) obtiennent l'olivétol (^{14}C -3) avec un faible rendement (16 %) par action du méthyl-2 octénoate sur l'acétyl-acétate d'éthyle (^{14}C -3) selon le schéma :

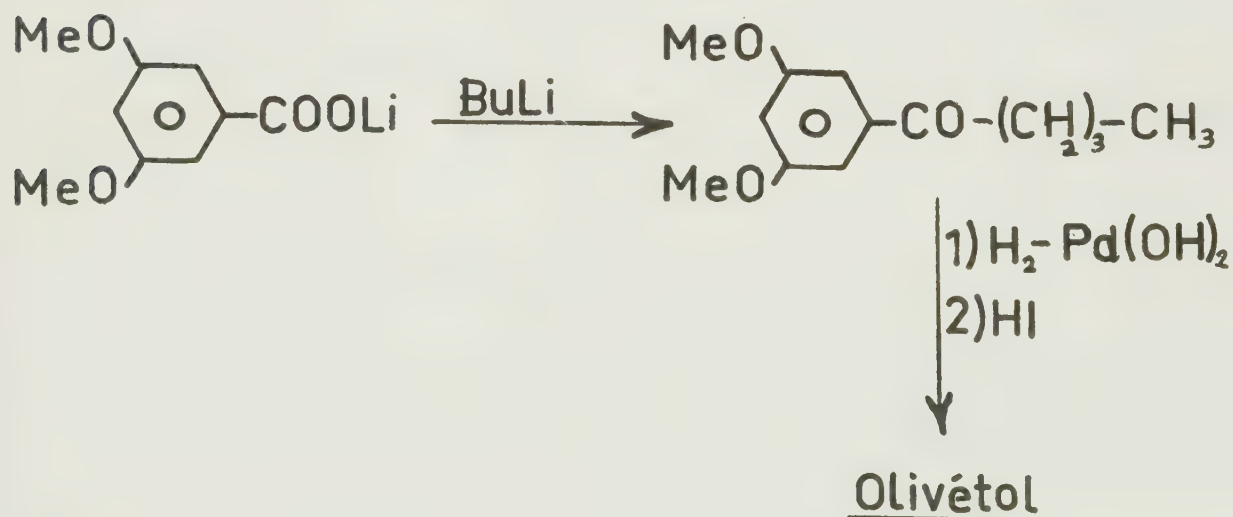


LIEBMAN et coll. (147) synthétisent l'olivétol ($^{14}\text{C}_{2-4,6}$) avec un rendement de 47 % par rapport au malonate d'éthyle (^{14}C -2), en traitant ce dernier composé par le céto-2 nonène-3 selon le schéma :



Dans ces méthodes, le rendement en olivétol(^{14}C) n'est pas élevé, d'autant plus qu'il faut synthétiser le malonate d'éthyle(^{14}C -2) et l'éthylacétoacétate(^{14}C -3) à partir du carbonate de baryum(^{14}C).

Il existe une méthode de synthèse inactive de l'olivétol par l'intermédiaire de 61 (164) qui donne un rendement de 76 % par rapport à l'acide 3,5-diméthoxybenzoïque. Il s'agit de l'action du sel de lithium de cet acide sur le butyllithium selon :



Cette synthèse serait transposable en actif en partant d'acide diméthoxybenzoïque (^{14}C). Mais, outre que les rendements en 61 sont inférieurs à ceux obtenus par notre méthode, il s'agit là d'une méthode beaucoup moins générale que celle que nous avons développée, car elle est limitée aux organolithiens.

PARTIE EXPERIMENTALE

I - Mode opératoire

1 - Silylation

A l'exception de l'acide méthyle malonique 50, tous les acides alcoyle maloniques ont été silylés dans les conditions habituelles par le BSA. Pour l'acide 50, l'ester silylé doit être séparé par distillation du MSA formé lors de la silylation. On évite cette distillation en utilisant le mélange TMCS-HMDS dans les conditions habituelles. Les rendements sont quantitatifs. Les spectres RMN des alcoyle malonates de TMS sont les suivants (sans solvant) :

- Méthyle malonate de TMS 50'

$\delta = 3,03$ ppm (qa - 1H - J = 7Hz - CH), $\delta = 1,01$ ppm (d - 3H - J = 7Hz - CH₃), $\delta = 0,00$ ppm (s - 18H - SiMe₃).

- Ethyle malonate de TMS 52'

$\delta = 2,88$ ppm (t - J = 7,5 Hz - 1H - CH), $\delta = 1,56$ ppm (m - 2H - CH₂), $\delta = 0,68$ ppm (t - J = 7,5Hz - 3H - CH₃), $\delta = 0,00$ ppm (s - 18H - SiMe₃).

- Propyle malonate de TMS 54'

$\delta = 3,02$ ppm (t - J = 6,75 Hz - 1H - CH), $\delta = 1,54$ ppm (m - 2H - CH₂),
 $\delta = 1,15$ ppm (m - 2H - CH₂), $\delta = 0,72$ ppm (t - J = 6,0 Hz - 3H - CH₃),
 $\delta = 0,00$ ppm (s - 18H - SiMe₃).

2 - Lithiation

Les alcoyle malonates de TMS, en solution dans 10 ml d'éther anhydre refroidi à - 60°C sont lithiés par l'action du n-BuLi en défaut, injecté directement dans le ballon réactionnel à l'aide d'une seringue.

3 - Condensation du chlorure d'acide sur l'organo lithien

A l'organo lithien maintenu à - 60°C, on ajoute goutte à goutte le chlorure d'acide (en défaut par rapport à l'organo lithien) en solution dans environ 50 ml de DME anhydre. Après fin d'addition, on laisse remonter la température lentement puis on agite une nuit à température ambiante. L'essai est porté à sec à l'évaporateur rotatif pour que la décarboxylation soit totale. On reprend à l'eau et on alcalinise la solution par la soude 1N. On extrait en continu à l'éther. On sèche sur sulfate de sodium et on porte à sec pour obtenir la cétone désirée.

II - Résultats

1 - Propiophénone 58

3,9 g (15 mM) de méthyl malonate 50' sont lithiés par 7 mM de n-BuLi. A l'organolithien 51 obtenu, on ajoute 281 mg (2 mM) de chlorure de benzoyle inactif.

Les chromatographies sur plaque de gel de silice avec un témoin de propiophénone montrent que la réaction a eu lieu et qu'il ne reste plus d'acide benzoïque de départ.

Solvants	Rf de <u>58</u>
Benzène	0, 52
Benzène-Acétate d'éthyle (6-4)	0, 91

Le rendement indiqué est obtenu par pesée du produit final et par un dosage U.V. réalisé dans l'hexane à la longueur d'onde de 237 m μ .

Les spectres U.V. dans l'hexane du produit final et de la propiophénone témoin sont identiques et présentent trois maxima d'absorption à 237 m μ , 278 m μ et 286 m μ .

Le spectre RMN de la propiophénone obtenue est le suivant (solvant CCl₄) :

$\delta = 7,62$ ppm et $7,12$ ppm (m - 5H - Ph), $\delta = 2,72$ ppm (q a - J = 7Hz - 2H - CH₂), $\delta = 1,00$ ppm (t - J = 7Hz - 3H - CH₃).

2 - Butyrophénone 59

281 mg (2 mM) de chlorure de benzoyle inactif sont traités par 7 mM de l'organolithien 53 obtenu par action de 7 mM de BuLi sur 3,9 g (14 mM) d'ester silylé 52'.

Le rendement (75 %) a été calculé d'après le dosage U.V. de la butyrophénone 59 obtenue. Le spectre U.V. (dans l'hexane) comporte deux maxima d'absorption à 237 mμ et à 276 mμ. Le spectre RMN de cette cétone 59 est le suivant (solvant CCl₄) :

$\delta = 7,61$ ppm et $7,22$ ppm (m - 5H - Ph), $\delta = 2,68$ ppm (t - J = 6,75 Hz - 2H - CH₂), $\delta = 1,50$ ppm (q i - 2H - CH₂), $\delta = 0,81$ ppm (m - 3H - CH₃).

3 - Phényl-1 pentanone-1 60

281 mg (2 mM) de chlorure de benzoyle sont condensés sur l'oganolithien 55 obtenu par action de 4 mM de n-BuLi sur 2,3 g (8 mM) de propyle malonate de TMS 54'.

Le produit de réaction a été purifié par chromatographie préparative sur plaque d'alumine dans le système de solvants : Benzène-Acétate d'éthyle (6-4). Il a été caractérisé d'après son spectre RMN qui est le suivant (dans CDCl₃) :

$\delta = 7,68$ ppm et $7,24$ ppm (m - 5H - Ph), $\delta = 2,72$ ppm (t - 2H - J = 6,75 Hz - CH₂), $\delta = 1,52$ ppm (m - 4H - CH₂ - CH₂), $\delta = 0,81$ ppm (m - 3H - CH₃).

4 - (Diméthoxy-3,5 phényl)-1 pentanone-1 (¹⁴C-1) 61

Nous avons effectué deux essais résumés dans le tableau suivant :

Propyle malonate de TMS <u>54'</u>	n-BuLi	Chlorure d'acide	Cétone ¹⁴ C <u>61</u>
3,2 g - 11 mM	7 mM	401 mg - 2 mM - 0 mCi	355 mg - 0 mCi - 80 %.
4,6 g - 16 mM	8 mM	401 mg - 2 mM - 3 mCi	400 mg - 2,7 mCi - 90 %.

Dans l'essai inactif, le produit final a été purifié par dissolution dans un volume minimum d'éthanol puis précipitation à - 25°C en quelques heures (aiguilles blanches). Dans l'essai traceur, le rendement (90 %.) est déterminé d'après l'enregistrement d'un chromatogramme (plaque de gel de silice dans le solvant Benzène-Acétate d'éthyle:6-4). Les valeurs des Rf sont :

- acide 3,5-diméthoxybenzoïque (¹⁴C) : Rf = 0,35
- (Diméthoxy-3,5 phényl)-1 pentanone-1 (¹⁴C-1) : Rf = 0,65

Le spectre RMN de la cétone 61 est le suivant (dans CDCl₃) :

δ = 6,9 ppm (d - 2H - Ph), δ = 6,45 ppm (t - 1H - Ph),
 δ = 3,65 ppm (s - 6H - OMe), δ = 2,78 ppm (t - 2H - COCH₂),
 δ = 1,20 ppm (s - 7H - CH₂ - CH₂ - CH₃).

CHAPITRE VII

EMPLOI DE L'ETHANE TRICARBOXYLATE DE TMS EN CHIMIE ORGANIQUE

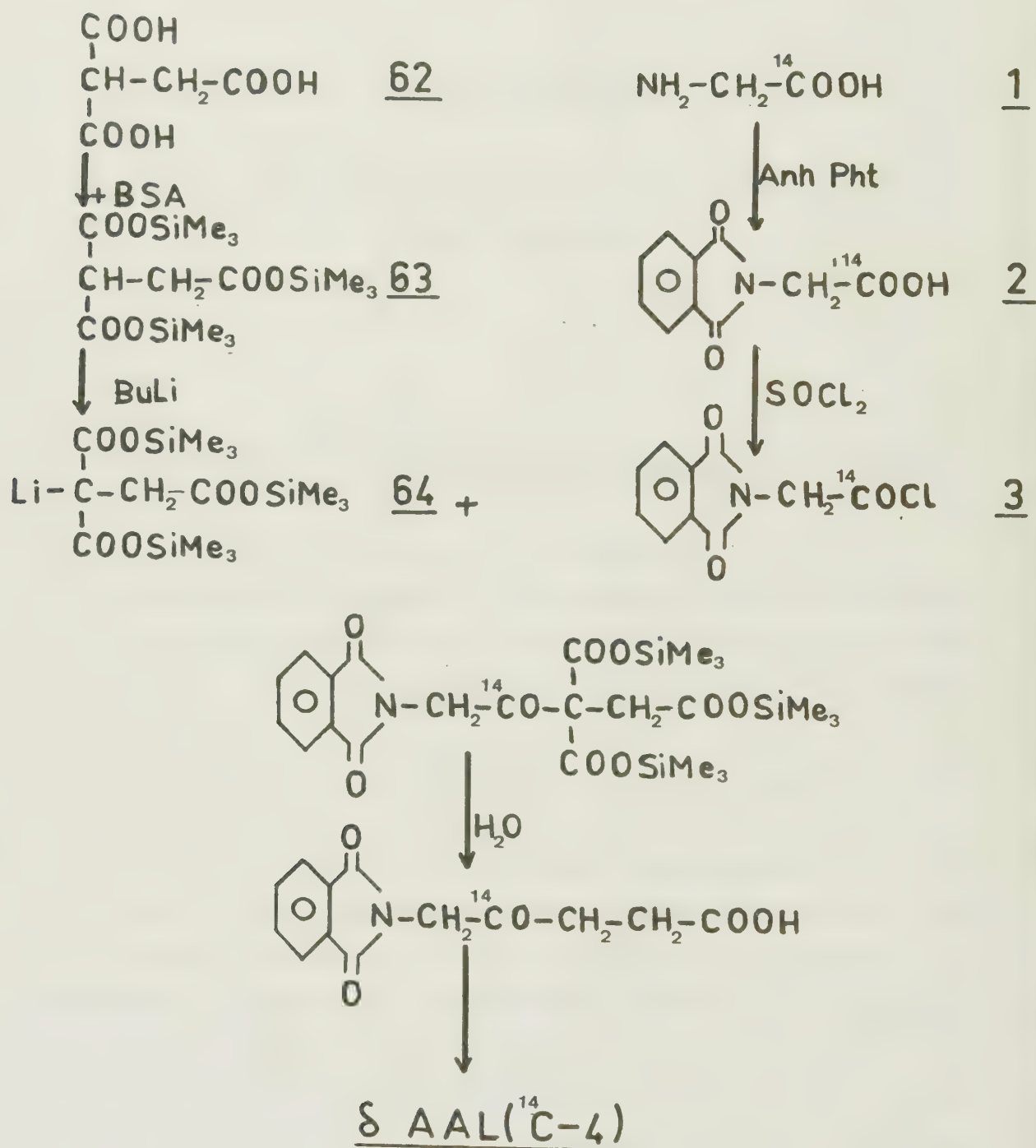
A - Préparation de l'acide δ -aminolévulique , (^{14}C -4) ou (^{14}C -5)

PICHAT et HERBERT (16) ont obtenu δ A A L (^{14}C) avec un très faible rendement en condensant le chlorure de phtalylglycine 3 sur le dérivé sodé ou éthoxymagnésien de l'éthanetricarboxylate-1,1,2 d'éthyle, de t-Butyle ou de tétrahydropyranyle.

1 - Avantage de l'utilisation de l'organolithien

Selon le schéma réactionnel représenté sur le tableau n° 12, (p 128) mais dans lequel l'éthane tricarboxylate de TMS 63 est remplacé par l'ester éthylique correspondant, nous avons condensé le chlorure de phtalylglycine 3 et le lithien obtenu par action du n-BuLi. Le mode opératoire étant celui décrit au paragraphe III de ce chapitre, nous avons formé 10 % de δ A A L et récupéré 90 % de glycine. Ce rendement est légèrement supérieur à celui obtenu (16) en utilisant le dérivé sodé.

Synthèse de δ AAL(^{14}C -4) utilisant l'éthanedicarboxylate
de TMS

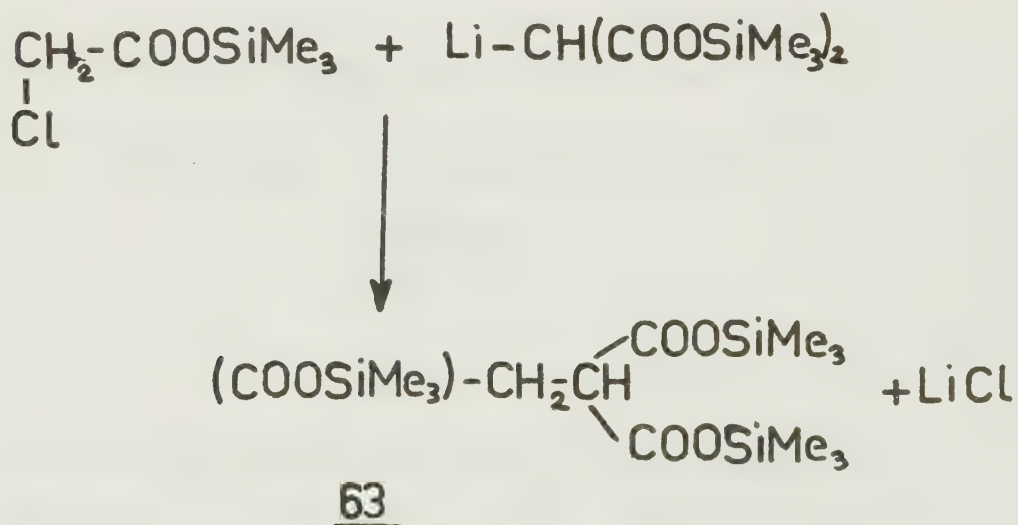


2 - Avantage de l'utilisation des dérivés silylés

L'utilisation du dérivé lithié 64 de l'éthane tricarboxylate de TMS a permis d'obtenir dans ce cas des rendements voisins de 70 %/o par rapport à la glycine.

Ce rendement élevé en δ AAL s'explique à notre avis principalement par la facilité d'hydrolyse des groupes TMS. On sait par exemple que, si on essaye de décarboxyler en cétones les acylmalonates d'éthyle par les moyens d'hydrolyse habituels, ceux-ci, au lieu de se décarboxyler, se coupent en régénérant le malonate d'éthyle (38). C'est ce qui se produit avec l'éthanetricarboxylate d'éthyle, d'où les très faibles rendements en δ AAL. Par contre pour l'ester silylé correspondant 63, quelques gouttes d'eau suffisent à régénérer la fonction acide libre et la décarboxylation spontanée de l'acide acyl malonique est alors pratiquement immédiate.

Les essais de préparation directe de 63 par condensation entre le sel de lithium de l'acide malonique silylé et le chloroacétate de TMS selon le schéma :



ont échoué. Nous avons tenté sans succès une transestérification entre l'ester éthylique et le triméthylsilanol en présence de triméthylsilyl - silanolate de sodium selon le schéma:



Nous avons essayé trois modes de silylation de l'acide éthanetricarboxylique 62 pour retenir finalement celui qui utilise le BSA.

3 - Choix de l'agent de lithiation

Nous avons comparé les résultats de lithiation par le phényllithium (en solution dans benzène-éther) et par le butyllithium (en solution dans l'hexane). Nous avons signalé des rendements supérieurs avec le butyllithium pour la lithiation du malonate de TMS (page 44), ce que nous expliquons par le fait que la solution de phényllithium contient environ autant de lithine que de phényllithium, ce qui n'est pas le cas de la solution de butyllithium.

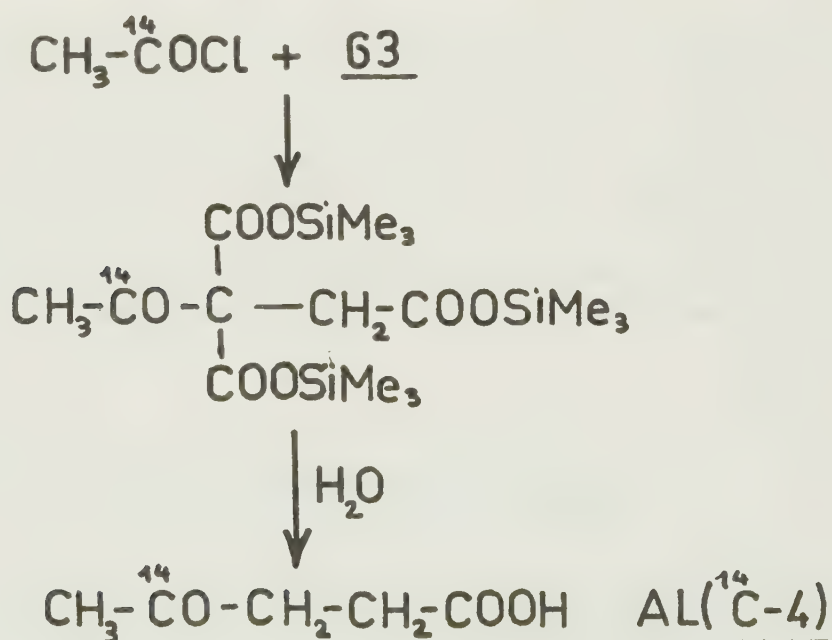
Dans le cas présent, la lithiation de l'éthane tricarboxylate de TMS 62 par le phényllithium, suivie d'une tentative de condensation sur le chlorure de phtalylglycine 3 n'a jamais donné de δ AAL (3 essais). Au contraire, si l'agent de lithiation est le butyllithium, on obtient δ AAL avec d'excellents rendements.

4 - Conclusion

Ce mode de synthèse conduit à δ A A L (^{14}C -4) ou (^{14}C -5) avec des rendements encore jamais atteints par rapport à la glycine (^{14}C -1) ou (^{14}C -2). Cette voie est plus intéressante que celle utilisant le malonate de TMS car le rendement est légèrement plus élevé et le nombre d'étapes actives n'est plus que de 3 au lieu de 5. Surtout, le risque d'isomérisation de la phtalimido-bromo-propanone 5 est éliminé.

B - Préparation de l'acide lévulinique (^{14}C -4)

Pour certaines applications biologiques, il est souhaitable de disposer d'acide lévulinique marqué au carbone 14 (AL (^{14}C)). A notre connaissance, il n'existe aucune synthèse active de AL(^{14}C). L'utilisation de l'éthanetricarboxylate de TMS 63 permet cette synthèse selon le schéma suivant :



Cette synthèse est réalisée avec un rendement de 64 % par rapport à l'acétate de sodium ^{14}C de départ.

PARTIE EXPERIMENTALE

I - Ethanetricarboxylate de TMS 63

1 - Essai de synthèse par transestérification

Le triméthylsilanol, obtenu par hydrolyse sélective de l'hexaméthylsilylazane (39 , 40), est distillé sous courant d'azote ($E = 96^{\circ}\text{C}$).

A 23,6 g (0,26 M) de triméthylsilanol, on ajoute 50 mg de sodium. Après réaction, on ajoute 21 g (0,085 M) d'éthanetricarboxylate d'éthyle. Sous courant d'azote, on agite et on chauffe à 80°C en surmontant le ballon d'une colonne à distiller. L'alcool, qui devrait se former si la réaction avait lieu, ^{ne} distille pas, même après 48 heures à 80°C . Par distillation, on retrouve les produits de départ. La transestérification n'a donc pas eu lieu.

2 - Silylation de l'acide éthanetricarboxylique 62

L'ester éthylique de l'acide 62 est un produit (EGA Chemie) dont le spectre RMN est le suivant (sans solvant) :

$\delta = 4,22$ ppm (qa - J = 6,75 Hz - 4H - COOCH₂), $\delta = 4,18$ ppm (qa - J = 6,75 Hz - 2H - COOCH₂), $\delta = 3,80$ ppm (t - J = 7,5 Hz - 1H - CH), $\delta = 2,83$ ppm (d - J = 7,5 Hz - 2H - CH₂), $\delta = 1,21$ ppm (t - J = 6,75 Hz - 9H - CH₃).

Il est saponifié par une solution de potasse (excès 50 %) dans le mélange eau-méthanol 50 - 50 (une nuit à température ambiante). On évapore l'alcool puis on extrait en continu à l'éther. On acidifie avec précaution par l'acide chlorhydrique 1 N et on extrait à nouveau en continu à l'éther. On obtient l'acide libre 62 en portant la solution étherée à sec. Le produit est dissous dans l'acétone à chaud puis reprecipité par l'éther de pétrole. Son point de fusion est alors de 160°C et ses spectres RMN

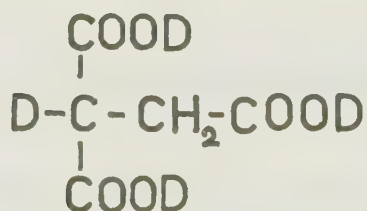
- solvant : acétone deutériée

$\delta = 5,60$ ppm (s - 3H - COOH), $\delta = 3,80$ ppm (t - J = 7,5 Hz - 1H - CH), $\delta = 2,83$ ppm (d - J = 7,5 Hz - 2H - CH₂).

- solvant : D₂O

D₂O à 5,25 ppm - δ 3,30 ppm (s - CH₂).

Ce dernier spectre RMN indique la grande mobilité de l'hydrogène acide puisque par simple dissolution dans l'eau lourde, on forme :



a) Silylation au TMCS

4,5 g (28 mM) d'acide 62 sont solubilisés dans 10 ml de pyridine anhydre et 50 ml d'éther anhydre. A 0°C, on ajoute 7 ml de TMCS et on agite deux heures à température ambiante. On ajoute de l'hexane et on filtre en boîte à gants. On porte bien à sec. Il reste une huile dont le spectre RMN indique qu'il s'agit de l'ester silylé 63.

b) Silylation à l'HMDS

4,5 g (28 mM) d'acide 62 sont dissous dans 20 ml de benzène anhydre. On ajoute 5 ml de HMDS et on chauffe 10 heures à reflux en l'absence d'humidité. On filtre en boîte à gants et on porte à sec. Le spectre RMN du produit obtenu montre qu'il s'agit du succinate de TMS formé par suite d'une décarboxylation.

c) Silylation au BSA

1,5 g (9,3 mM) d'acide 62 sont placés en suspension dans 20 ml d'éther anhydre. En boîte à gants, on ajoute 8 ml de BSA. On agite 5 minutes à température ambiante puis on porte à sec, le MSA étant chassé sous vide à 100°C. On obtient ainsi l'éthanetricarboxylate de TMS 63 avec un rendement quantitatif.

- Spectre RMN (sans solvant)

$\delta = 3,86$ ppm (t - J = 7,5 Hz - 1H - CH), $\delta = 2,90$ ppm (d - J = 7,5 Hz - 2H - CH₂), $\delta = 0,00$ ppm (s - 27H - SiMe₃).

- Spectre I.R. (entre faces de NaCl)

CH ₂ - 2950 - 2890 - 1350	- Si-O- 1180 - 1020
COO - 1720 - 940	- Si-CH ₃ 1260 - 850 - 770 (en cm ⁻¹).

II - Mode opératoire général

1 - Dérivé lithié de l'éthanetricarboxylate de TMS 64

4, 5 g (12 mM) d'ester silylé 63 sont dissous dans 10 ml d'éther anhydre et déperoxydé. On refroidit à - 60°C et à cette température, à l'aide d'une seringue, on introduit 6 mM de butyllithium en solution dans l'hexane. L'organolithien 64 est insoluble dans ces conditions. On agite 5 minutes à - 60°C.

2 - Acylation de l'organolithien 64

Sous courant d'azote, on fixe sur une des tubulures du ballon réactionnel une ampoule à brome contenant entre 1 et 2 mM de chlorure d'acide (^{14}C) (en solution dans 50 ml de DME anhydre) que l'on ajoute goutte à goutte à - 60°C. Puis on laisse la température remonter et on agite ensuite une nuit à température ambiante.

3 - Hydrolyse

Elle est réalisée par 10 ml d'eau. Pour δ AAL(^{14}C), une hydrolyse par le mélange $\text{HCl}-\text{CH}_3\text{COOH}$: 50 - 50 (15 heures à reflux) est encore nécessaire.

III - Synthèse de δ AAL (^{14}C -4)

1 - Chlorure de phtalylglycine (^{14}C -1) 3

Il est obtenu à partir de glycine (^{14}C -1) avec un rendement pratiquement quantitatif comme il a été indiqué page 47.

2 - Essais inactifs

Les résultats de ces essais sont résumés dans le tableau suivant :

Ester silylé <u>63</u>	Agent lithiant	Chlorure <u>3</u>	Rendement en δ A A L
1,13 g - 3 mM	PhLi 2 mM	224 mg 1 mM	0 %.
1,44 g - 3 mM	PhLi 2 mM	224 mg 1 mM	0 %.
2 g - 5,3 mM	PhLi 2 mM	224 mg 1 mM	0 %.
5,4 g - 12 mM	PhLi 6 mM	224 mg 1 mM	0 %.
5,4 g - 12 mM	BuLi 6 mM	224 mg 1 mM	60 %.

Les rendements sont déduits du dosage par l'auto-analyseur d'acides aminés.

3 - Essais traceurs

Les rendements indiqués en δ A A L (^{14}C) (déterminés à l'aide des chromatogrammes et du passage sur auto-analyseur) sont calculés par rapport à la glycine (^{14}C) mise en jeu initialement. Dans le tableau qui résume ces essais traceurs, nous indiquons le pourcentage de glycine (^{14}C) présente en fin de synthèse.

Ester silylé <u>63</u>		Agent lithiant		Chlorure(¹⁴ C) <u>3</u>		Glycine(¹⁴ C)		δ AAL(¹⁴ C)	
4, 5 g	12 mM	n-BuLi	6 mM	1, 4 mM	1 mCi	0, 09 mM	9 °/.	1, 03 mM	75 °/.
9 g	24 mM	n-BuLi	12 mM	2 mM	1 mCi	0, 1 mM	5 °/.	1, 17 mM	60 °/.

Il est à noter qu'aucun autre produit actif n'est mis en évidence, l'acide δ-aminolévulinique étant obtenu avec une assez bonne pureté radio-chimique. En particulier, le faible pourcentage de glycine souillant le produit final facilite la purification sur résine Dowex.

4 - Essai actif: δ AAL(¹⁴C-4)

150 mCi (3, 75 mM) de glycine(¹⁴C-1) 1 ont fourni 135 mCi (3, 37 mM) de chlorure de phtalylglycine 3. Ce chlorure 3 est condensé sur l'organolithien 64 obtenu par action de 23 mM de BuLi sur 16, 7 g (44 mM) de l'ester silylé 63.

Après hydrolyse acide, nous retrouvons une activité de 148 mCi et 81 °/ de cette activité, soit 120 mCi, correspondent à δ AAL(¹⁴C). Le rendement brut est donc de 7 5 °/ par rapport à la glycine.

La purification sur résine Dowex (page 21) donne une solution de δ AAL séparée en deux fractions :

- cœur	87 mCi
- tête et queue	28 mCi

Ces deux fractions sont contrôlées séparément et, étant chimiquement et radiochimiquement pures, sont réunies.

Le bilan final après dosages et contrôles est donc :

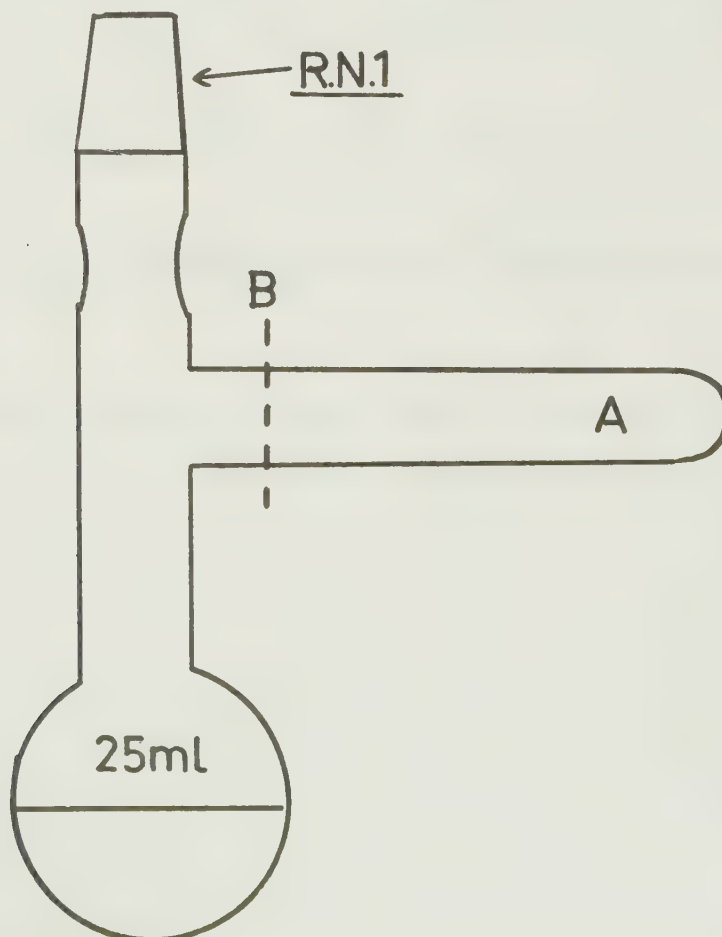
<u>δ AAL ($^{14}\text{C}-4$)</u>	115 mCi à 41,5 mCi/mM
	2,77 mM - 464 mg

soit un rendement final de 75 % par rapport à la glycine.

IV - Synthèse de AL ($^{14}\text{C}-4$)

1 - Chlorure d'acétyl ($^{14}\text{C}-1$) (81 , 82)

0,76 mCi (1 mM) d'acétate de sodium ($^{14}\text{C}-1$) (CH_3COONa , $3\text{H}_2\text{O}$), en solution dans 10 ml d'eau, est transféré dans l'appareil suivant :



La solution est lyophilisée et l'acétate est déshydraté par chauffage sous vide secondaire à 120°C durant 6 heures. A l'abri de l'humidité, l'acétate est recouvert d'oxychlorure de phosphore fraîchement distillé. L'appareillage est bouché et abandonné 24 heures à température ambiante. Puis le mélange réactionnel est plongé dans l'azote liquide, l'appareillage est placé sous vide secondaire et scellé au niveau de l'étranglement. Le ballon est alors refroidi à - 10°C et en 3 heures, le chlorure d'acétyle (^{14}C -1) distille dans le doigt (A) refroidi à l'azote liquide. On ouvre l'appareillage au niveau de (B) et sous atmosphère d'azote, le chlorure d'acétyle est repris par 10 ml de DME anhydre. L'activité de cette solution est 0,7 mCi (rendement quantitatif).

2 - Résultats

Le chlorure d'acétyle(^{14}C -1) est condensé avec l'ester silylé 63 (2,2 g - 6 mM) lithié par 3 mM de n-BuLi. Après hydrolyse à l'eau, l'essai est porté à sec à l'évaporateur rotatif et repris par 40 ml d'éther. On retrouve 0,49 mCi et on obtient une seule tache active sur les chromatographies sur papier dans les trois solvants suivants :

a - Butanol-Acide acétique-Eau (50 - 25 - 25)	Rf = 0,68
b - Isopropanol-Ammoniaque (70 - 30)	Rf = 0,50
c - Pyridine-Alcool isoamylique-Acide acétique-Eau (80 - 40 - 10 - 40)	Rf = 0,40

On purifie Al(^{14}C -4)ainsi obtenu par chromatographie préparative sur plaques de gel de silice dans le solvant (b).

CHAPITRE VIII

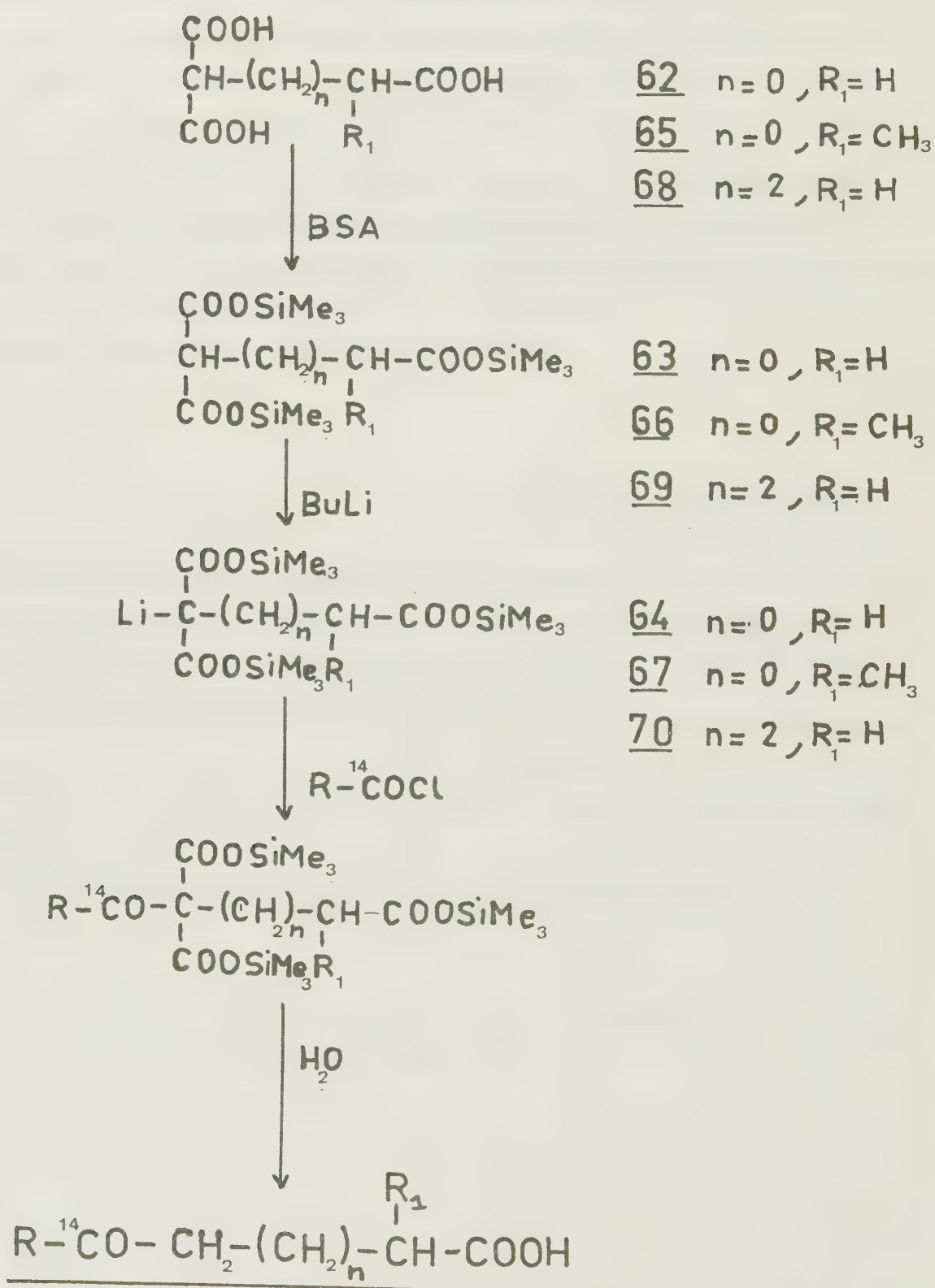
TRANSFORMATION D'ACIDES (CARBOXYLE ^{14}C) EN ACIDES
CÉTONIQUES (^{14}C) PAR SYNTHÈSE MALONIQUE À L'AIDE
D'ESTERS TMS D'ACIDES ALCANE TRICARBOXYLIQUES -1,1,2 ET -1,1,4

- Présentation de la méthode

Nous avons généralisé la méthode du chapitre précédent (page 127) pour la préparation de quelques ω -aminocétoacides homologues ou analogues de δ A A L, ainsi que d'acides cétoniques par condensation de chlorures d'acides (carboxyle ^{14}C) sur les dérivés lithiés d'esters TMS d'acides alcane tricarboxyliques -1,1,2 ou -1,1,4 selon le schéma représenté sur la tableau n° 13 (p 141)

Les résultats sont rapportés dans le tableau suivant :

Synthèse d'acides cétoniques (^{14}C)



$^{14}\text{RCOCl}$	n	R_1	Produit obtenu	Rdt/R _{COOH}
$\begin{array}{c} \text{O} \\ \parallel \\ \text{C} \\ \diagup \quad \diagdown \\ \text{C}_6\text{H}_4 \quad \text{C} \\ \diagdown \quad \diagup \\ \text{O} \end{array} \text{N}-\overset{14}{\underset{\text{CH}_3}{\text{C}}}-\text{COCl}$	0	H	$\text{NH}_2-\overset{14}{\underset{\text{CH}_3}{\underset{\text{O}}{\parallel}{\text{C}}}}-(\text{CH}_2)_2-\text{COOH}$	72 $\frac{72}{72}$ 70 %
$\begin{array}{c} \text{O} \\ \parallel \\ \text{C} \\ \diagup \quad \diagdown \\ \text{C}_6\text{H}_4 \quad \text{C} \\ \diagdown \quad \diagup \\ \text{O} \end{array} \text{N}-\overset{14}{\text{CH}_2}-\text{COCl}$	2	H	$\text{NH}_2-\overset{14}{\text{CH}_2}-\overset{14}{\text{CO}}-(\text{CH}_2)_3-\text{COOH}$	73 $\frac{73}{73}$ 80 %
$\begin{array}{c} \text{O} \\ \parallel \\ \text{C} \\ \diagup \quad \diagdown \\ \text{C}_6\text{H}_4 \quad \text{C} \\ \diagdown \quad \diagup \\ \text{O} \end{array} \text{N}-\overset{14}{\text{CH}_2}-\text{COCl}$	0	CH_3	$\text{NH}_2-\overset{14}{\text{CH}_2}-\overset{14}{\text{CO}}-\text{CH}_2-\underset{\text{CH}_3}{\underset{ }{\text{CH}}}-\text{COOH}$	74 $\frac{74}{74}$ 20 %
Ph- $^{14}\text{COCl}$	0	H	$\text{C}_6\text{H}_5-\overset{14}{\text{CO}}-(\text{CH}_2)_2-\text{COOH}$	75 $\frac{75}{75}$ 80 %
Ph- $^{14}\text{COCl}$	malonate de TMS		$\text{C}_6\text{H}_5-\overset{14}{\underset{\text{O}}{\parallel}{\text{C}}}-\text{CH}_2-\text{COOH}$	76 $\frac{76}{76}$ 83 %

Pour la synthèse de l'acide α -méthyl δ -aminolévulique 74, nous constatons que le rendement est faible et en tout cas bien inférieur à celui des autres essais. Ce fait est peut être lié aux effets inductifs du groupe méthyle fixé en α du proton mobile, mais nous ne pouvons avancer aucune explication avec certitude.

L'acide benzoyl acétique(¹⁴C-3) 76 est obtenu en utilisant le malonate de TMS. Il s'agit d'un cas très particulier de l'emploi des acides alcane tricarboxyliques.

PRICE et PADMANATHAN (41) ont déjà synthétisé certains analogues méthylés inactifs de δ A A L, en particulier 72.

Il serait sans doute intéressant d'étudier les propriétés biologiques de l'homologue 73 de δ A A L et de ses analogues méthylés 72 et 74.

La méthode que nous décrivons permet d'obtenir avec d'excellents rendements des acides cétoniques à partir d'acides carboxyliques. Ce mode de préparation est applicable en synthèse inactive comme en synthèse active. Il constitue également un procédé d'élongation de chaîne d'un acide de 2, 3, 4, 5, n atomes de carbone et n'est limité que par la disponibilité des acides du type : $(\text{COOH})_2\text{-CH-(CH}_2\text{)}_n\text{COOH}$.

PARTIE EXPERIMENTALE

I - Mode opératoire général

1 - Chlorures d'acides (^{14}C)

- Chlorure de benzoyle (^{14}C)

171 mg (1,4 mM) d'acide benzoïque (^{14}C) sont chauffés 1 heure à 80°C avec 3 ml de chlorure de thionyle. On porte à sec sous vide. Il reste 197 mg (1,4 mM) d'une huile incolore (Rdt : 100 %).

- Chlorure de phthalylglycine (^{14}C) 3

Voir page 47

- Chlorure de phthalylalanine (^{14}C) 71

Il est obtenu d'une façon identique au chlorure 3 en partant d'alanine (^{14}C -1). Le produit est purifié par sublimation à 80°C sous vide secondaire (Rdt : 90 %).

2 - Esters TMS des acides alcane tricarboxyliques

Les acides 62, 65, 68 sont obtenus à partir des esters éthyliques correspondants.

76 mM d'ester éthylique sont chauffés pendant 2 heures à 80°C avec 90 mM de potasse en solution ^(dans) 100 ml du mélange eau-alcool (50 - 50). On extrait en continu à l'éther puis la couche aqueuse, refroidie à 0°C, est acidifiée prudemment par l'acide chlorhydrique 10 %/. Cette solution est à nouveau extraite en continu à l'éther. Par évaporation du solvant, on obtient les acides carboxyliques, avec des rendements pratiquement quantitatifs. Les acides suivants ont été caractérisés :

- Acide éthane tricarboxylique-1,1,2 (voir page 133) 62

- Acide butane tricarboxylique-1,1,4 68

P.F. = 140°C

Spectre RMN (acétone deutériée) : $\delta = 10,4$ ppm (s - 3H - COOH),

$\delta = 3,45$ ppm (t - 1H - CH), $\delta = 2,40$ ppm (t - 2H - CH₂COO),

$\delta = 1,84$ ppm (m - 4H - CH₂ - CH₂).

- Acide propane tricarboxylique-1,1,2 65

P.F. = 166°C

Spectre RMN (acétone D₆) : $\delta = 9,80$ ppm (s - 3H - COOH), $\delta = 3,82$ ppm

(d - J = 9,75Hz - 1H - CH(COO)₂), $\delta = 3,50$ ppm (sx - J = 9,75Hz et

J = 6,75Hz - 1H - CHCOO), $\delta = 1,38$ ppm (d - J = 6,75Hz - 3H - CH₃).

Les esters TMS de ces acides sont obtenus par action du BSA : 10 mM d'acide en suspension dans 20 ml d'éther anhydre sont traités par 10 ml de BSA pendant 5 minutes à température ambiante en boîte à gants.

En portant à sec à l'évaporateur rotatif tout en chauffant le ballon (sous vide primaire) à 100°C, on obtient les esters silylés correspondants sous forme de produits huileux, avec un rendement quantitatif.

Spectres RMN (sans solvant) :

- Ethanetricarboxylate-1,1,2 de TMS 63

Voir page 134

- Butanetricarboxylate-1,1,4 de TMS 69

$\delta = 2,97$ ppm (t - J = 6,75 Hz - 1H - CH), $\delta = 1,98$ ppm (t - J = 6,70 Hz - 2H - CH₂COO), $\delta = 1,84$ ppm (m - 4H ; CH₂ - CH₂), $\delta = 0,00$ ppm (s - 27H - SiMe₃).

- Propanetricarboxylate-1,1,2 de TMS 66

$\delta = 3,75$ ppm (d - J = 9,75 Hz - 1H - CH(COO)₂), $\delta = 3,15$ ppm (sx - J = 9,75 Hz et J = 6,74 Hz - 1H - CHCOO), $\delta = 1,35$ ppm (d - J = 6,75 Hz - 3H - CH₃), $\delta = 0,00$ ppm (s - 27H - SiMe₃).

3 - Dérivés organolithiés et acylation

Les conditions expérimentales sont exactement celles utilisées pour la synthèse de δ A A L (¹⁴C) utilisant l'éthanetricarboxylate de TMS (Chapitre VII).

Pour les essais 1, 2, 3 qui fournissent des acides cétoniques aminés, l'essai se termine par une hydrolyse acide au moyen du mélange HCl-CH₃COOH (50 - 50) durant 15 heures à reflux. Pour les essais 4 et 5, les produits finaux (non aminés) sont obtenus après hydrolyse par l'eau ; dans ce dernier cas, il n'y a pas d'hydrolyse acide à réaliser.

II - Résultats

1 - Acide δ -méthyl δ -aminolévulinique - (^{14}C -4) 72

4,2 g (12 mM) d'ester 63 lithiés par 6 mM de n-BuLi sont condensés avec 1 mCi (1,4 mM) de chlorure de phtalylanine 71 .

L'analyse chromatographique sur papier (solvants utilisés pour δ A A L) fournit une première indication du rendement. Celui-ci est contrôlé par un passage de l'essai sur l'auto-analyseur d'acides aminés qui montre trois pics :

- 1er pic : α -alanine (^{14}C) (30 %) .
- 2ème pic : acide δ -méthyl δ -aminolévulinique (^{14}C -4) 72 (70 %) .
- 3ème pic : produit aminé non actif.

Les temps de sortie de l' α -alanine (^{14}C) et de l'acide synthétisé (^{14}C) sont pratiquement identiques à ceux respectivement de la glycine (^{14}C) et de δ A A L (^{14}C) dans des conditions de passage identiques. On a tenté de purifier l'acide δ -méthyl δ -aminolévulinique (^{14}C) 72 par chromatographie préparative sur papier dans le solvant : Butanol-Acide acétique-Eau (50 - 25 - 25). Dans ces conditions, l'acide n'est pas séparé de l' α -alanine (^{14}C). Il est finalement purifié par passage sur résine Dowex 50 W X 12 dans des conditions en tout point semblables à celles qui permettent de purifier δ A A L (^{14}C) (page 21).

- Spectre RMN (solvant D_2O) D_2O à 5,45 ppm

δ = 5,04 ppm (qa - J = 7,5 Hz - 1H - CH), δ = 3,42 ppm (m - 4H - CH_2 - CH_2), δ = 2,19 ppm (d - J = 7,5 Hz - 3H - CH_3).

Ce spectre est identique à celui cité dans la littérature (41).

2 - Acide amino-6 céto-5 hexanoïque 73

4,2 g (10 mM) d'ester silylé 69 lithiés avec 6 mM de n-BuLi sont condensés avec 1 mCi (1,4 mM) de chlorure de phtalylglycine 3 pour fournir 73 avec un rendement de 80 % .

Le rendement est calculé d'après l'enregistrement actif des chromatographies sur papier (dans les solvants utilisés pour le contrôle de δ AAL ^{14}C) et d'après le passage sur auto-analyseur d'acides aminés.

Par chromatographie préparative sur papier dans le solvant : Butanol-Acide acétique-Eau (50 - 25 - 25), on obtient l'acide amino-6 céto-5 hexanoïque 73 chimiquement et radiochimiquement pur.

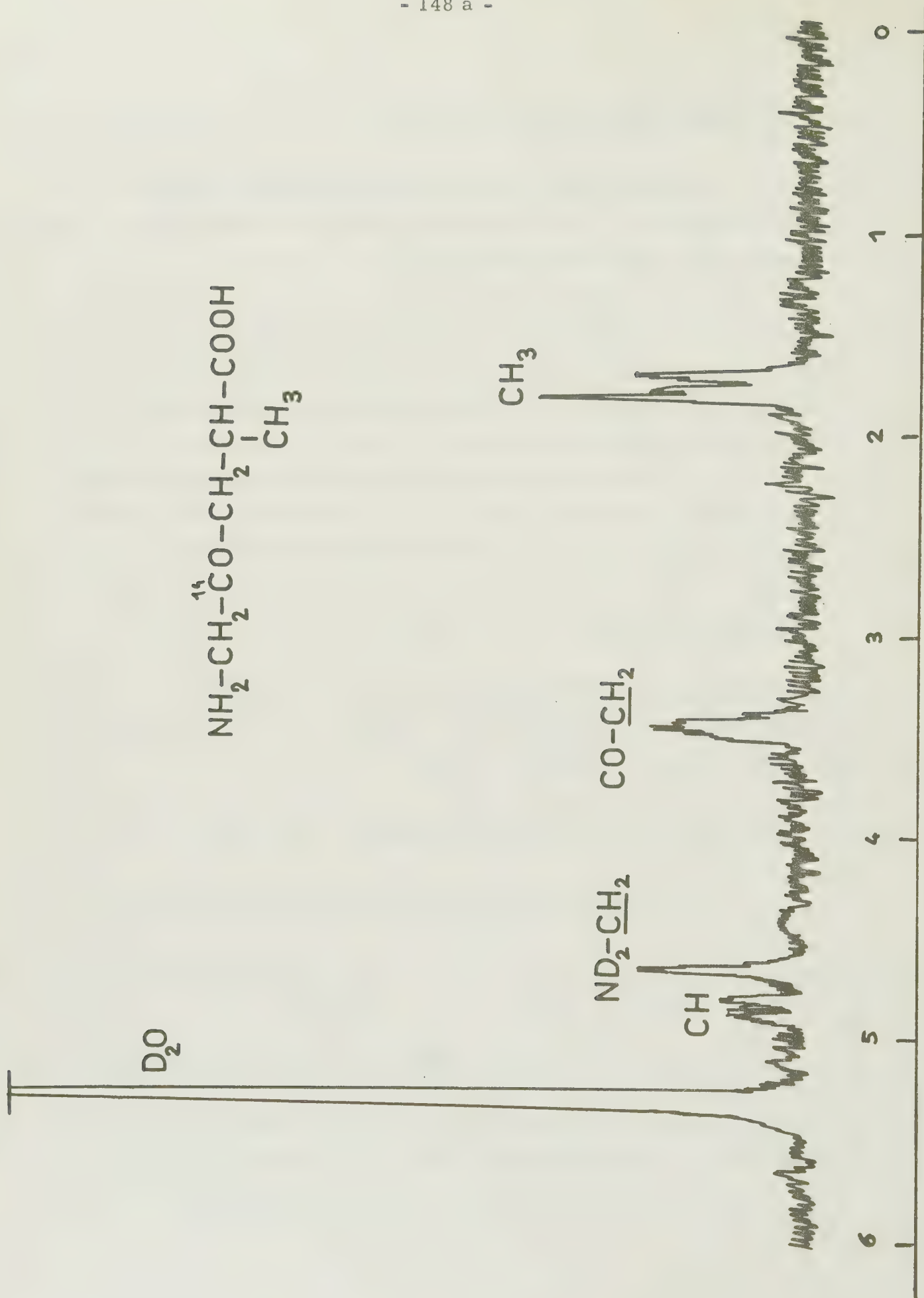
- Spectre RMN (solvant : D_2O à 5,25 ppm)

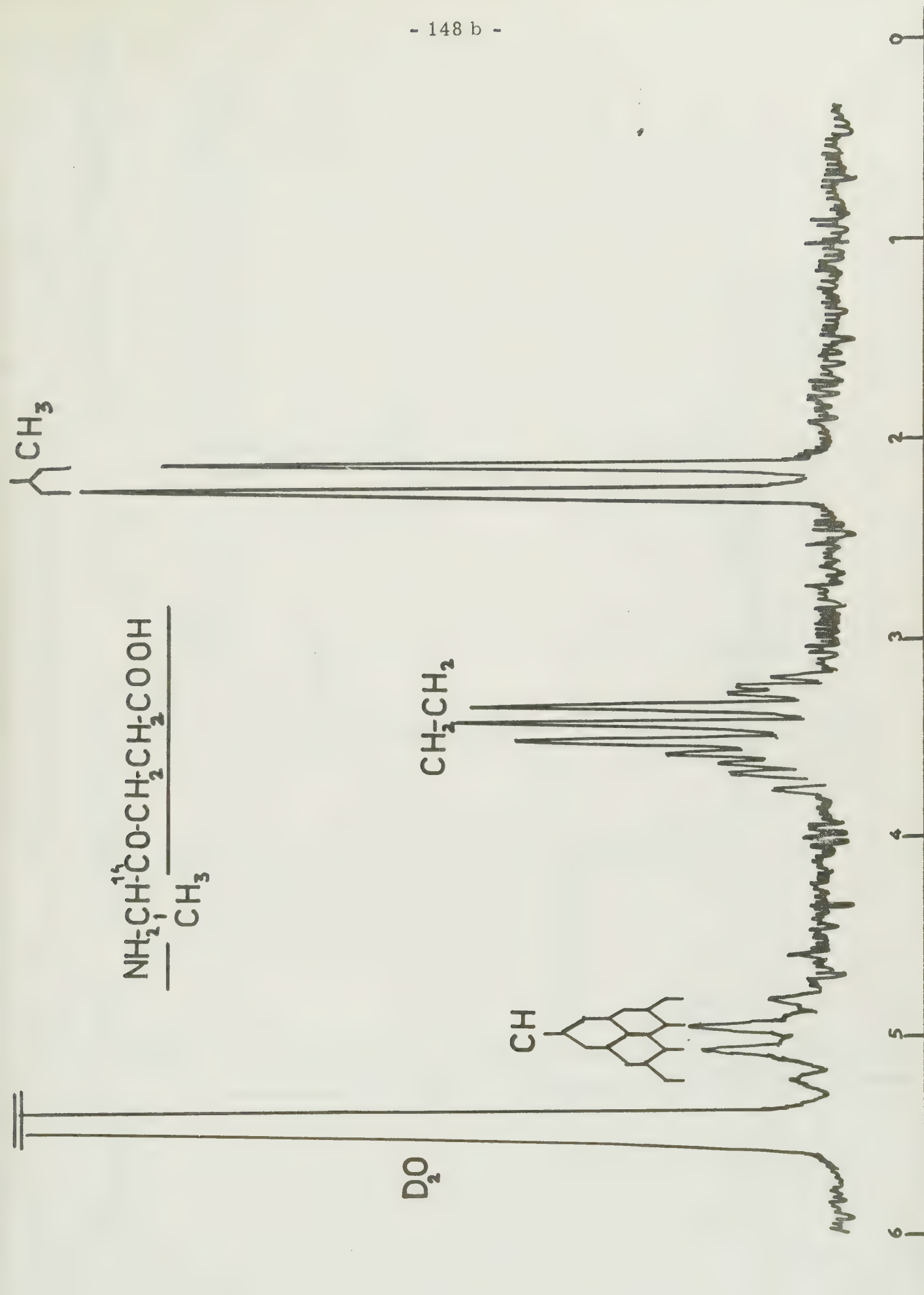
$\delta = 4,52$ ppm (s - 2H - ND_2 - CH_2 - CO), $\delta = 3,08$ ppm (t - J = 6,0 Hz 2H - CH_2 - 4), $\delta = 2,83$ ppm (t - J = 6,0 Hz - 2H - CH_2 - 2) ,
 $\delta = 2,04$ ppm (m - 4H - CH_2 - CH_2).

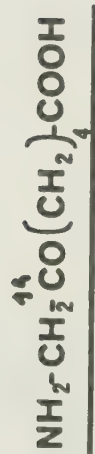
3 - Acide α -méthyl- δ -aminolévulique (^{14}C -4) 74

Nous avons tenté les deux essais suivants de synthèse :

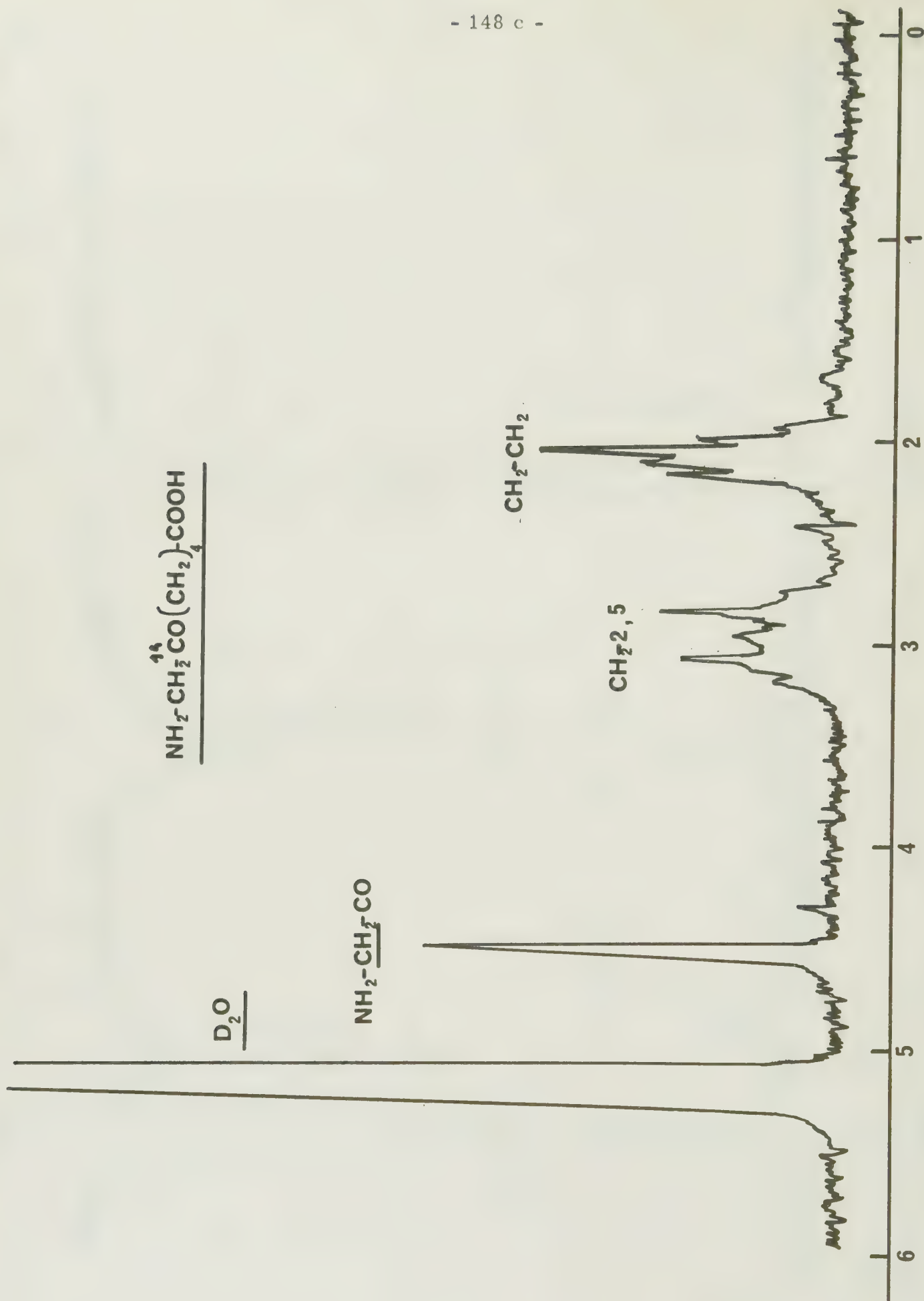
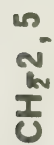
	Ester silylé <u>66</u>		BuLi	Glycine (^{14}C -1)			Rdt
1	4,4 g	10 mM	6 mM	105 mg	1,4 mM	1 mCi	19 %.
2	4,4 g	10 mM	6 mM	105 mg	1,4 mM	1 mCi	20 %.

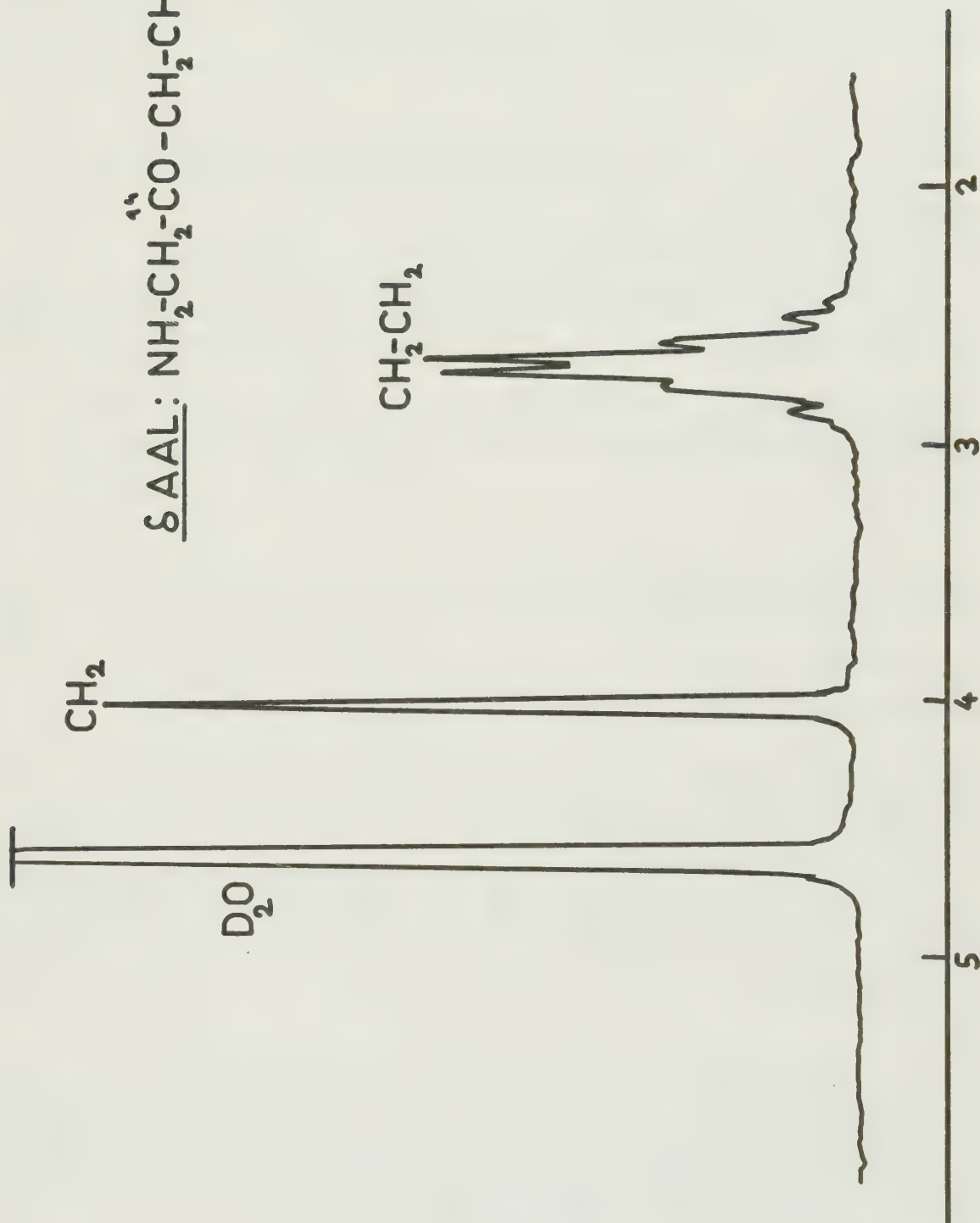
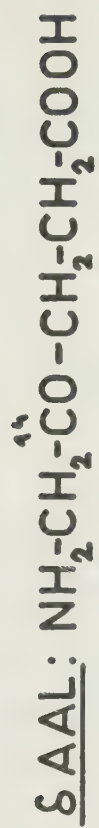






D_2O





Les enregistrements actifs des chromatographies sur papier (dans les solvants précédemment cités) et le passage sur auto-analyseur d'aminoacides indiquent les pourcentages suivants :

- glycine (^{14}C) : 70 %.
- acide α -méthyl δ -aminolévulique (^{14}C -4) 74 : 20 %.
- impureté active non aminée : 10 %.

L'acide α -méthyl δ -aminolévulique (^{14}C) 74 est très voisin de δ AAL en ce qui concerne son Rf (coloration jaune à la ninhydrine) et son temps de sortie sur auto-analyseur. Il a été purifié par chromatographie préparative sur papier (solvant : Butanol-Acide acétique-Eau, 50 - 25 - 25).

- Spectre RMN (solvant : D_2O à 5, 25 ppm)

$\delta = 4,86$ ppm (m - 1H - CH), $\delta = 4,68$ ppm (s - 2H - ND_2 - CH_2 - CO),
 $\delta = 3,48$ ppm (d - 2H - COCH_2), $\delta = 1,75$ ppm (d - 3H - CH_3).

4 - Acide β -benzoyl propionique (^{14}C -4) 75

4,2 g (10 mM) d'ester silylé 63 lithiés par 6 mM de n-BuLi sont traités par le chlorure de benzoyle préparé à partir de 1 mCi (1,4 mM) d'acide benzoïque.

Le rendement est déterminé par l'enregistrement actif des chromatographies sur plaque de gel de silice dans le solvant : Benzène-Méthanol (9 - 1) (un seul pic actif). Le produit est purifié par chromatographie préparative sur plaque de gel de silice dans le même solvant.

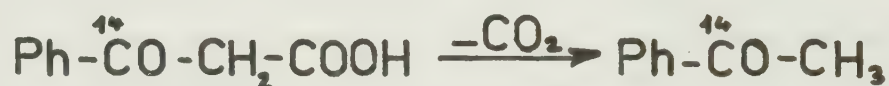
- Spectre RMN (solvant : acétone D₆)

$\delta = 8,20$ ppm et $7,70$ ppm (m - 5H - Ph), $\delta = 3,39$ ppm (t - J = 6,30 Hz - 2H, CH₂), $\delta = 2,74$ ppm (t - J = 6,30 Hz - 2H - CH₂).

5 - Acide benzoyl acétique (¹⁴C-3) 76

4 g (16 mM) de malonate de TMS lithiés par 6 mM de n-BuLi sont condensés sur le chlorure de benzoyle préparé à partir de 1 mCi (1,4 mM) d'acide benzoïque pour fournir 76 avec un rendement de 83 %.

L'acide 76 se décarboxyle très facilement en acétophénone selon le schéma



Effectivement, les chromatographies sur plaque de gel de silice dans le système de solvants : Benzène-9 Méthanol-1 présentent deux pics actifs : le premier correspond à 76 (83 % de l'activité) et le second correspond à l'acétophénone (17 % de l'activité).

CHAPITRE IX

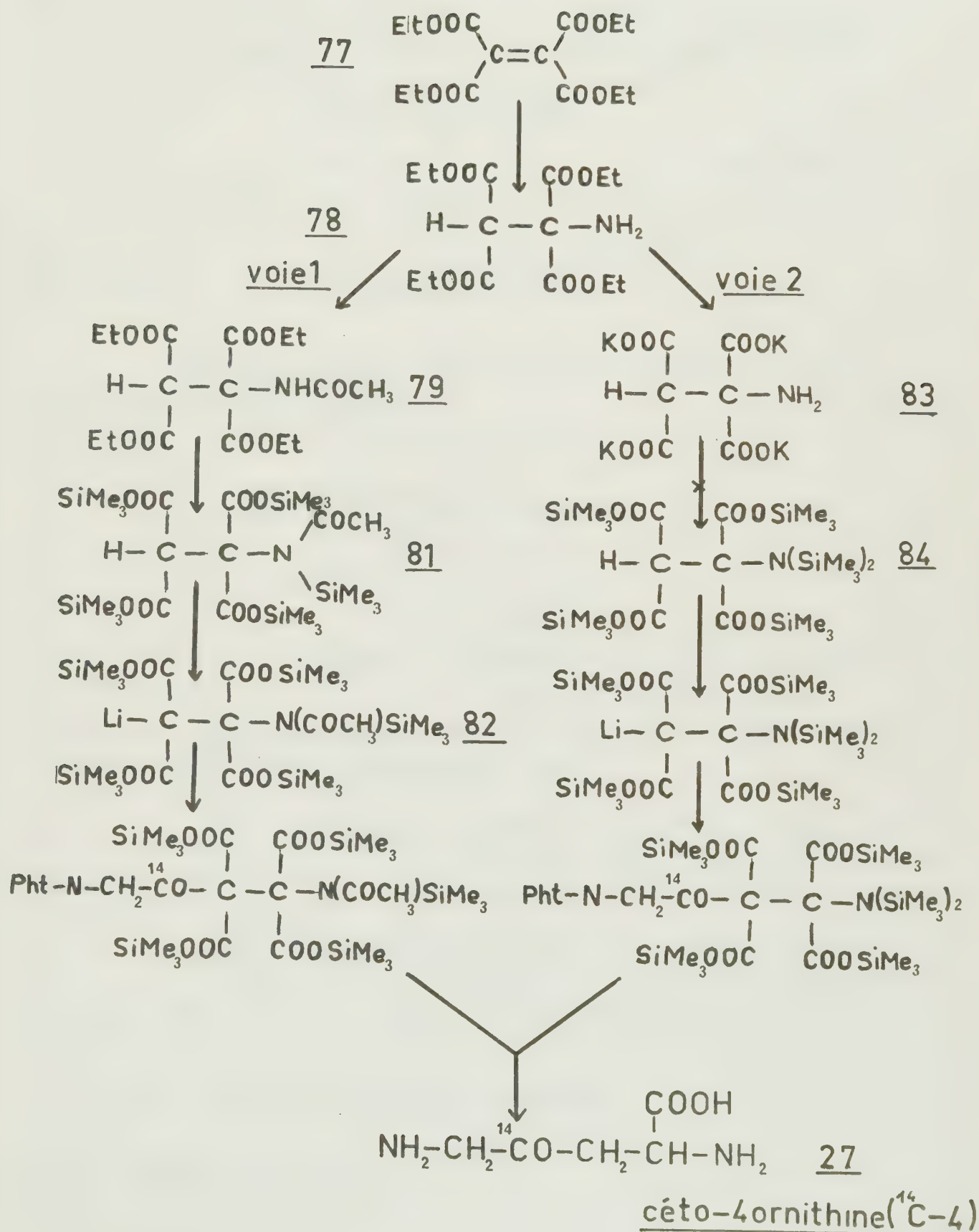
ESSAIS D'UTILISATION D'ACIDES AMINO ETHANE POLYCARBOXYLIQUES MALONIQUES POUR LA SYNTHÈSE DE CETO-4 ORNITHINE (^{14}C -4)

Dans un chapitre précédent (page 88), nous avons parlé de la synthèse de céto-4 ornithine (^{14}C -4) qui permet d'accéder à l'histidine marquée au carbone 14. Dans la méthode précédemment décrite, nous avons signalé l'obtention de céto ornithine (^{14}C -4) 27 avec un rendement de 30 % . Nous avons tenté d'obtenir un rendement supérieur en examinant trois schémas réactionnels (Tableaux n° 14 et 15) (p. 152 et 153)

Le principe consiste en la condensation du chlorure de phtalyl-glycine sur les esters TMS lithiés 81, 85, 86 de manière à augmenter la condensation en carbone de trois unités et à créer simultanément une fonction amine et une fonction carboxylique.

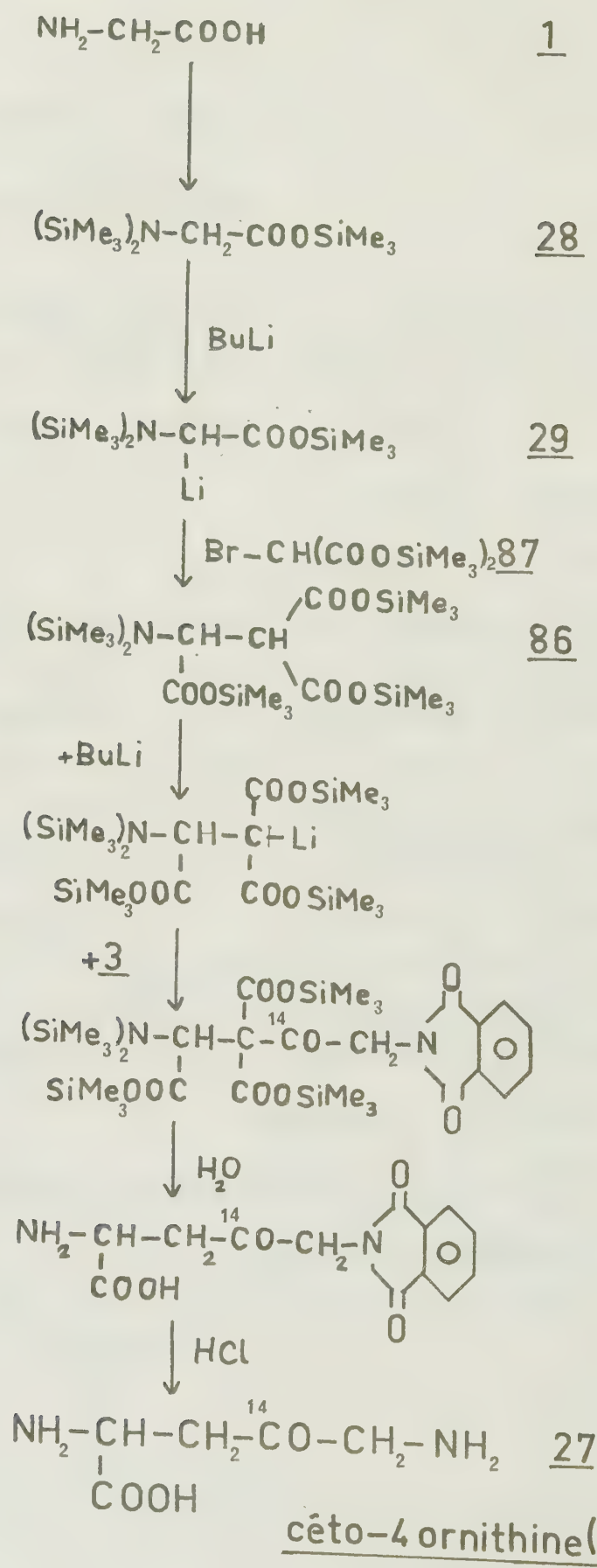
L'acide acétamido-1 éthane tétracarboxylique-1,1,2,2 80 a été préparé par saponification de l'ester éthylique correspondant, lui-même obtenu à partir d'éthylène tétracarboxylate d'éthyle commercial (42 , 43). Puis il a été transformé en ester TMS.

TABLEAU n° 14 - Synthèse de cêto-4 ornithine(¹⁴C-4)



- 153 -

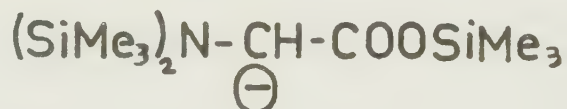
TABLEAU n° 15 - Synthèse de cêto-4 ornithine(¹⁴C-4)



Le N-triméthylsilyl amino-1 éthane tétracarboxylate de TMS 85 n'a pu être obtenu par la voie envisagée (Tableau n° 14) car la silylation du sel de potassium 83 n'a pas donné de résultats satisfaisants. L'acide libre correspondant à 83 selon PHILIPPI et SEKA (44) n'est pas stable et se décarboxyle à la température ambiante.

Le N-bis (triméthylsilyl) amino-2 éthane tétracarboxylate-1, 1, 2, 2 de TMS 86 a été obtenu par condensation du bromomalonate de triméthylsilyle 27 sur le lithien dérivé du N-bis(triméthylsilyl) glycinate de TMS 28 .

D'après (29) et (30) la glycine silylée 28 donne avec l'amidure de sodium NaNH_2 le carbanion :



qui peut être C-alcoylé. Nos essais d'alcoylation par le bromomalonate de TMS 87 ont échoué. Par contre, le carbanion obtenu par action du n-BuLi a bien réagi dans le sens voulu avec 87 car l'hydrolyse du produit réactionnel a fourni l'acide aspartique.

Les essais de condensation de l'ester silylé 86 lithié avec le chlorure de phtalylglycine 3 ont tous donné des résultats négatifs.

Quant aux essais de condensation de 3 sur le dérivé lithié 82 de l'ester silylé 81 , ils ont conduit à des rendements en céto-4 ornithine (^{14}C -4) 27 de 10 % .

Ces trois dernières méthodes, utilisant les acides éthane-polycarboxyliques maloniques silylés, fournissent la cétoornithine (^{14}C), avec un rendement inférieur à celui obtenu par l'emploi d'acétamido malonate de TMS qui était de 30 % par rapport à la glycine (^{14}C) (Chapitre IV).

PARTIE EXPERIMENTALE

I - Emploi d'acétamido-1 éthanetétracarboxylate-1,1,2,2 de TMS 81

16 g (50 mM) de 78 sont obtenus à partir de 20 g (63 mM) d'éthylène tétracarboxylate d'éthyle 77 (EGA Chemie) en solution éthanolique par barbotage de NH_3 à 0°C selon (42) et (43).

. Spectres RMN

- Ethylène tétracarboxylate d'éthyle 77 (solvant : acétone deutériée)

$\delta = 4,32$ ppm (qa - J = 6, 75Hz - 8H - CH_2), $\delta = 1,28$ ppm (t - J = 6, 75 Hz - 12H - CH_3).

- α -amino éthane tétracarboxylate d'éthyle 78 (sans solvant)

$\delta = 4,80$ ppm (s - 1H - CH), $\delta = 4,52$ ppm (qa - J = 6, 75Hz - 8H - CH_2), $\delta = 2,84$ ppm (s élargi - 2H - NH_2), $\delta = 1,54$ ppm (t - J = 6, 75Hz - 12H - CH_3).

Au produit précédent 78 solubilisé dans 50 ml d'éther anhydre, on ajoute 0,7 ml de pyridine anhydre et à 0°C , 4,2 ml de chlorure d'acétyle. Après agitation (une nuit à température ambiante), on détruit l'excès

de chlorure d'acétyle par l'eau, on lave par 8 ml de HCl 15 % et par l'eau ; on obtient ainsi avec un rendement de 90 % l'acétamido-1 éthane tétra carboxylate-1, 1, 2, 2 d'éthyle 79 .

. P.F. = 70°C - Spectre RMN (solvant : acétone deutériée)

$\delta = 7,51$ ppm (s large - 1H - NH), $\delta = 4,58$ ppm (s - 1H - CH),
 $\delta = 4,15$ ppm (qa - J = 6,75Hz - 8H - CH₂), $\delta = 1,95$ ppm (s - 3H - CH₃),
 $\delta = 1,20$ ppm (t - J = 6,75Hz - 12H - CH₃).

L'obtention de l'acide libre 80 est très délicate. La saponification est réalisée par un excès de potasse à température ambiante. L'acide libre est obtenu par acidification par l'acide HCl 1N à 0°C ou mieux par une suspension aqueuse titrée de Dowex 50 W X12, en suivant la titration au pH mètre.

. Spectre RMN (solvant : D₂O à 5,25 ppm)

$\delta = 5,68$ ppm (s - 1H - NH), $\delta = 2,48$ ppm (s - 3H - COCH₃).

De plus ces spectres indiquent que dans tous nos essais, il reste un certain pourcentage d'ester non saponifié.

L'acide libre 80 ainsi obtenu est silylé par le TMCS (2 heures à reflux) ou par le BSA (5 minutes à 25°C) selon les modes opératoires déjà décrits. Les résultats sont identiques avec le TMCS ou le BSA mais donnent des produits silylés impurs comme on peut le constater sur leurs spectres RMN.

. Spectre RMN (sans solvant)

$\delta = 6,50$ ppm (s large - 1H - NH), $\delta = 5,00$ ppm (s - 1H - CH),
 $\delta = 1,16$ ppm (s - 3H - COCH₃), $\delta = 0,00$ ppm (s - 36H - SiMe₃).

La lithiation de 81 et la condensation sur le chlorure d'acide 3 sont faites dans les conditions que nous avons déjà été amenés à décrire, à savoir :

- lithiation par le butyllithium à - 60°C dans l'éther,
- chlorure d'acide 3 en solution dans le DME ajouté à - 60°C à l'organo-lithien 82 (temps de réaction : une nuit à 25°C). L'hydrolyse est réalisée par l'eau puis, sur l'essai porté à sec, par le mélange HCl-CH₃COOH (50 - 50).

Les rendements indiqués ci-dessous sont déduits des enregistrements des chromatographies sur papier dans les solvants :

- Butanol-Acide acétique-Eau (50 - 25 - 25)
- Acétate d'éthyle-Acide formique-Eau (70 - 20 - 10).

et du passage des essais sur auto-analyseur d'acides aminés. Les résultats sont les suivants :

	Ester silylé <u>81</u>		BuLi	Glycine (¹⁴ C-1) de départ			Glycine retrouvée	Cétoornithine <u>27</u>
1	4,2 g	7,3 mM	4,5 mM	75 mg	1 mM	1 mCi	80 %	12 %
2	3,5 g	6,3 mM	6 mM	75 mg	1 mM	0,5 mCi	80 %	10 %
3	2,6 g	4,7 mM	4 mM	75 mg	1 mM	0,5 mCi	80 %	10 %

De plus, il se forme une quantité importante d'acide aspartique provenant de la décarboxylation de l'acide α -amino éthane tétracarboxylique.

N-triméthylsilylamino-1 éthane tétra carboxylate-1,1,2,2 de TMS

La silylation directe du sel de potassium 83 par un excès du mélange TMCS-HMDS (1-1) n'a pas été possible.

II - N-bis (triméthylsilyl) amino-2 éthane tricarboxylate-1,1,2 de TMS 86

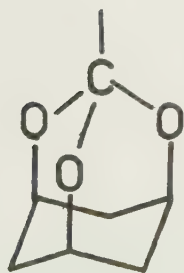
3 mM de bromomalonate de TMS 87 sont traités par l'organo lithien 29 obtenu par action de 4 mM de n-BuLi sur 6 mM de glycinate 28 (dans le DME à - 60°C). Après hydrolyse de 86, le dosage sur auto-analyseur d'acides aminés indique qu'on a obtenu environ 3 mM d'acide aspartique. Par distillation, on obtient 28 et on ne retrouve pas 86, peut être thermodégradable. L'action sur 86 de 2 mM de n-BuLi (à - 60°C dans l'éther) suivie de l'addition de 3 (à - 60°C dans 50 ml de DME) n'a pas conduit après hydrolyse à l'obtention de céto-4 ornithine 27.

CHAPITRE X

EMPLOI DU GROUPEMENT TRIOXA-2, 4, 10 ADAMANTANE POUR LA SYNTHÈSE DE δ AAL (^{14}C -4)

I - Intérêt du groupe trioxa-2, 4, 10 adamantane 88

STETTER et STEINACKER (45 , 46) puis BOHLMAN et SUCROW (47) ont utilisé le groupe trioxa-2, 4, 10 adamantane 88 (un orthoester cyclique rigide) comme fonction acide carboxylique "masquée". Ils ont montré que cette fonction orthoester est stable en milieu basique ou neutre et résiste relativement bien à l'hydrolyse acide. Elle n'est pas attaquée par les hydrures, le diazométhane, les chlorures d'acides et n'est pas hydrogénée catalytiquement. De plus, elle est stable vis-à-vis des organomagnésiens. Cette propriété nous a incité à préparer le "Grignard" dérivé du (β -bromoéthyl)-3 trioxa-2, 4, 10 adamantane 98 , réactif qui fournit la possibilité d'introduire une chaîne propionique par réaction sur divers électrophiles. La carbonatation avec $^{14}\text{CO}_2$ (schéma n° 10) permet l'introduction du ^{14}C ; la fonction acide ainsi créée autorise



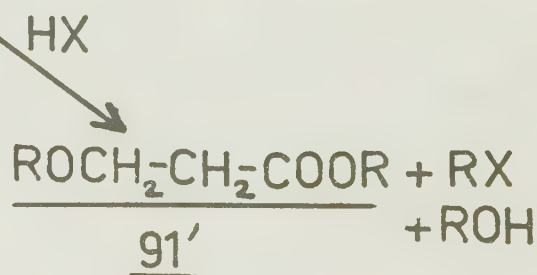
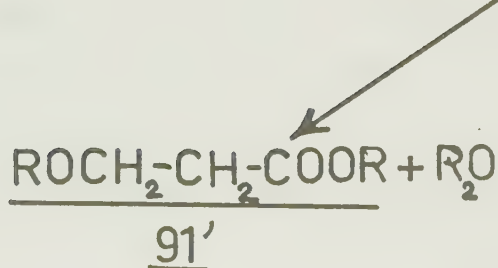
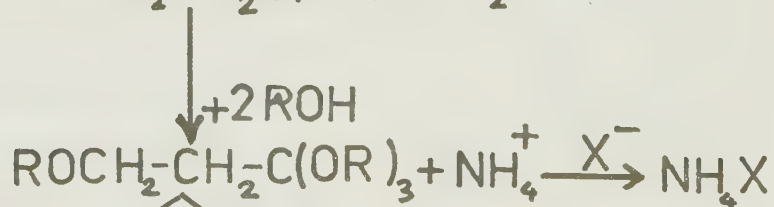
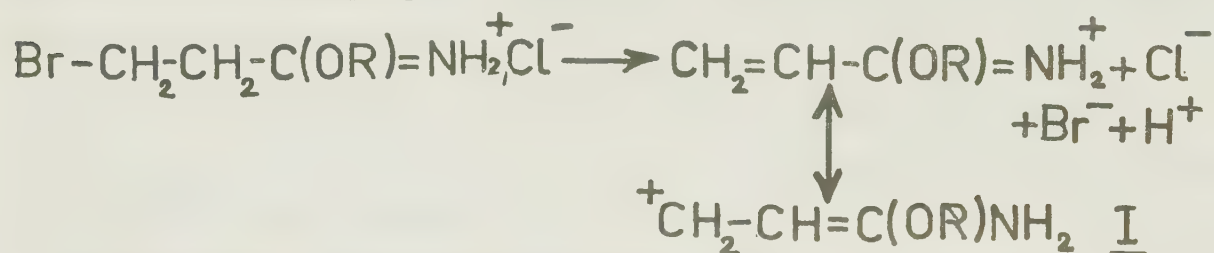
88

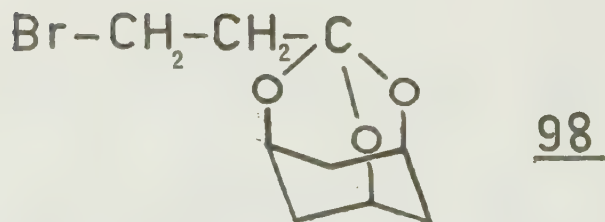
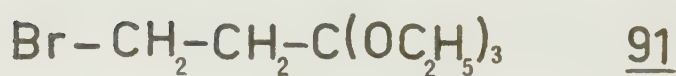
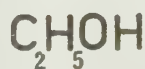
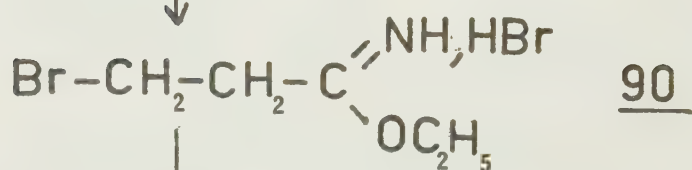
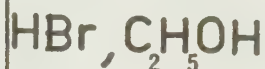
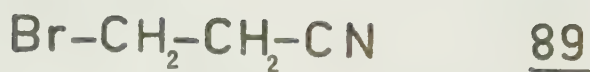
diverses transformations, dont la préparation de δ AAL ($^{14}\text{C}-4$) est un premier exemple.

II - (Bromo-1 éthyl)-3 trioxa-2,4,10 adamantane 98

Pour la préparation en quantité de 98, nous avons exploré deux voies (schémas n° 16 et 17) (p 162 et 163)

Dans le schéma 16, la préparation du bromhydrate de β -bromo-propionimide d'éthyle 90 selon (50 - 56) n'a pas présenté de difficultés. L'action de l'éthanol dans l'éther sur 90 ne nous a pas fourni après distillation l'orthoester attendu 91 mais de l'éthoxy-3 propionate d'éthyle 91'. Sa formation s'explique par les réactions suivantes :



Essais de synthèse du (bromo-1éthyl)-3trioxa-2,10,
adamantane 98

Synthèse du (bromo-1 éthyl)-3 trioxa-2,4,10 adamantane

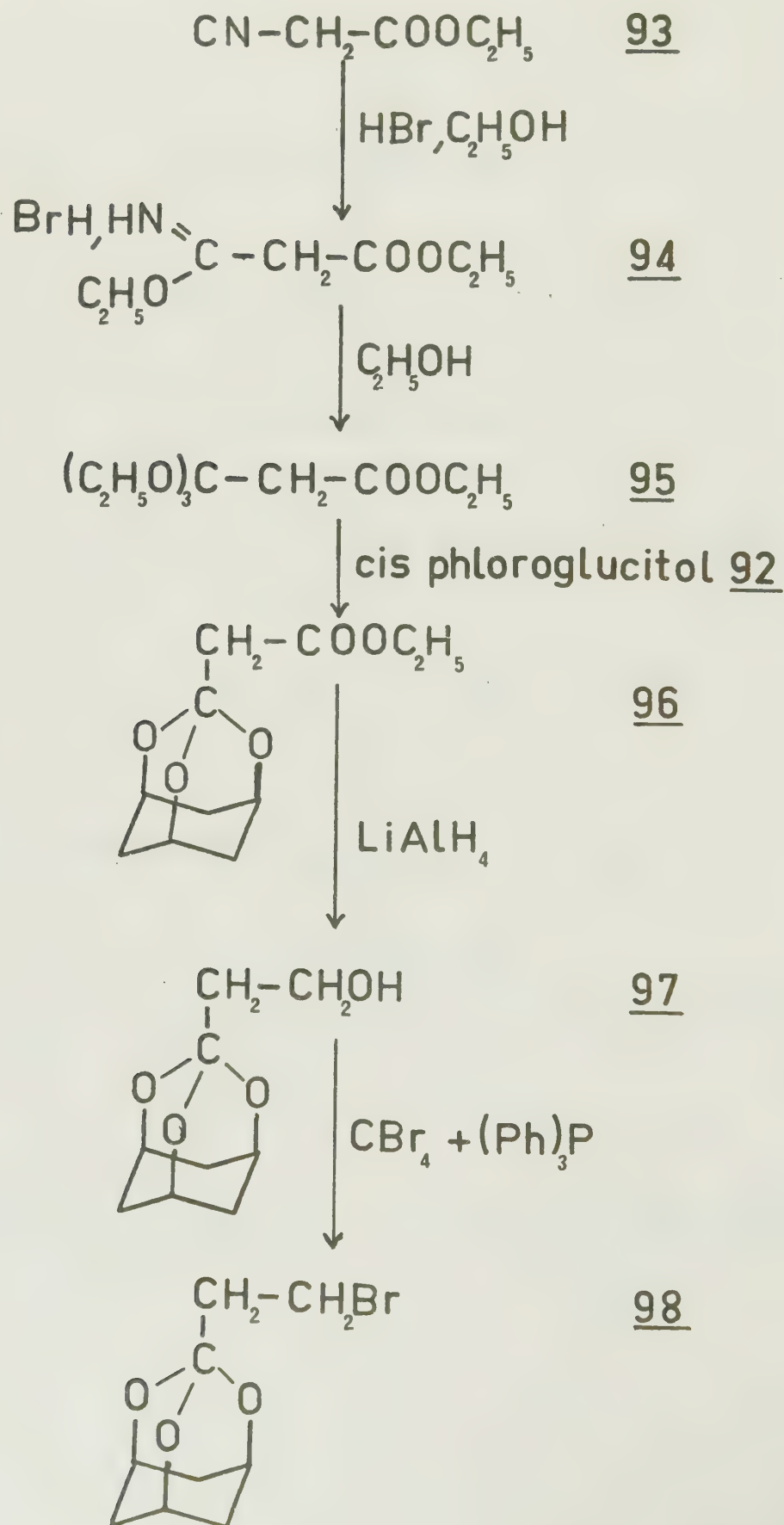
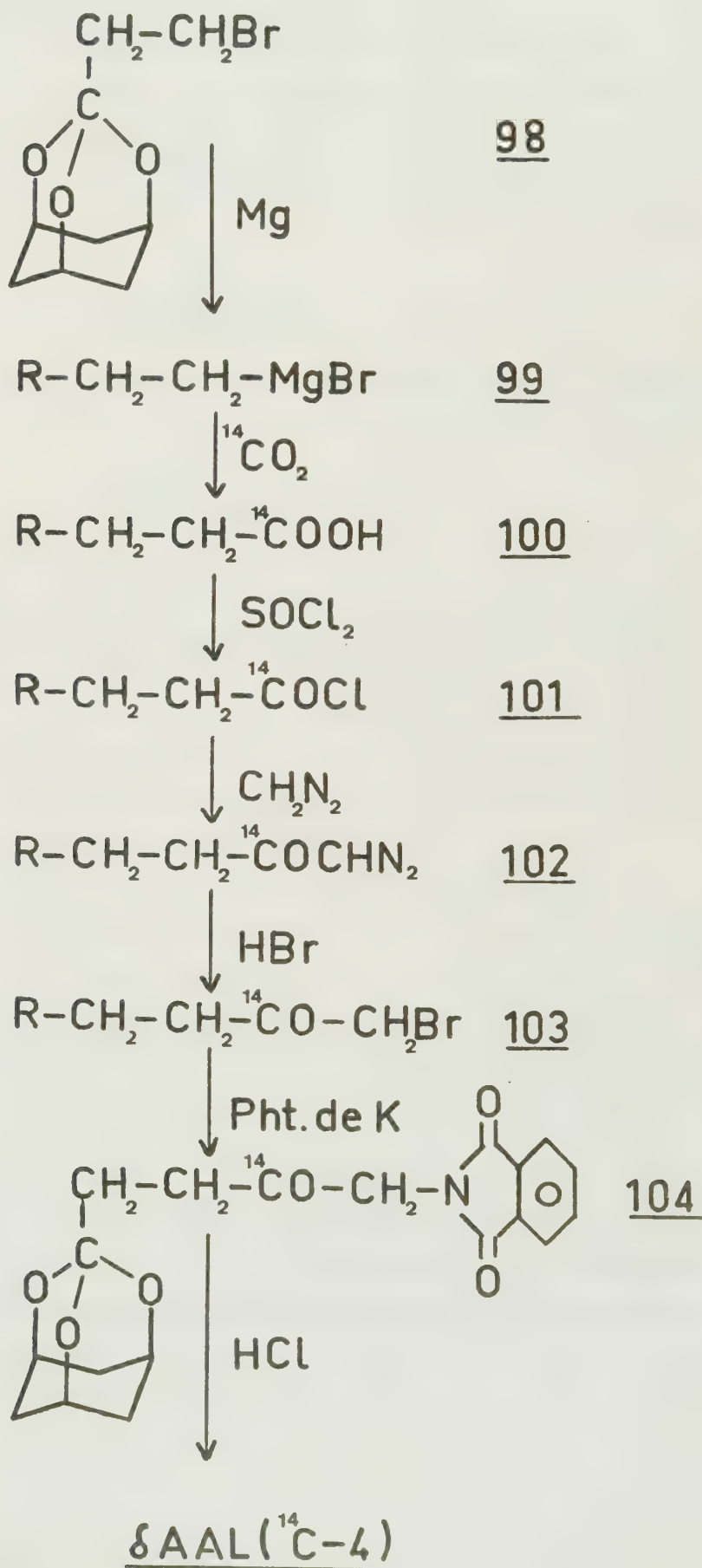


TABLEAU n° 18

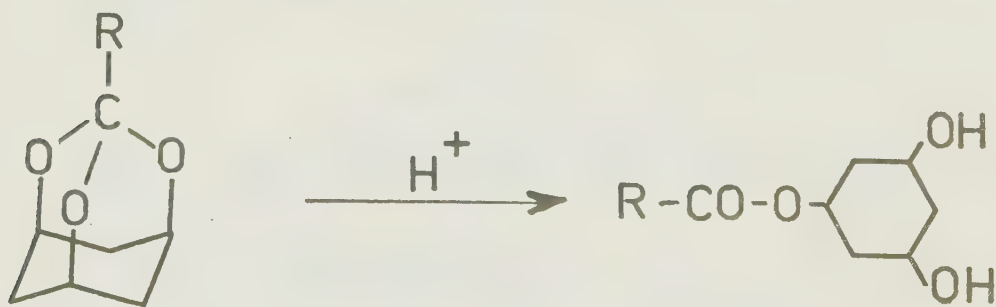
Synthèse de δ AAL (^{14}C -4): utilisation, du groupe
trioxa-2,4,10 adamantane



Dans le même temps, SCHROEDER, HARDIN et MARSHALL (60) ont publié des résultats identiques. Par contre, plus récemment, d'autres auteurs (61) ont obtenu le β -bromo orthopropionate de méthyle (non distillable sans décomposition) d'une pureté de 80 % par action du méthanol sur le β -bromo propionimide de méthyle. Nous avons reproduit ce résultat. Mais par transestérification avec le phloroglucitol 92 en présence de BF_3 , le rendement en 98 est faible. Nous avons donc abandonné cette voie pour adopter celle du schéma 17.

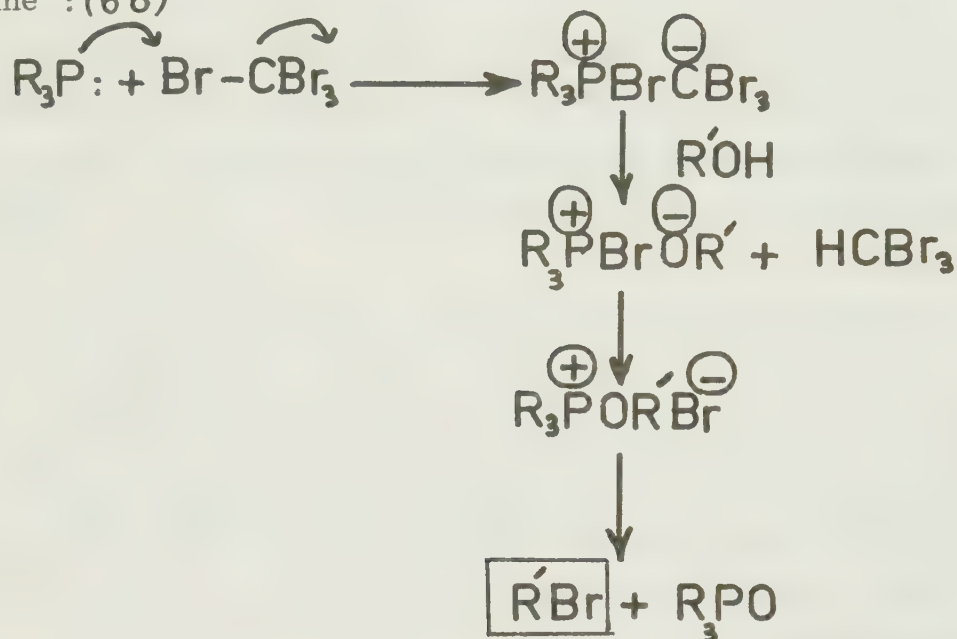
Le cyanacétate d'éthyle donne (50 - 56) le chlorhydrate du carboéthoxy-2 acétimide d'éthyle dont l'alcoolyse fournit le triéthoxy-3, 3, 3 propionate d'éthyle 95 .

Ce dernier, par transestérification avec le cis-phoroglucitol 92 en présence de BF_3 (45 - 47) crée le noyau trioxa adamantane en donnant l'éthoxycarboxyl méthyl-3 trioxa-2, 4, 10 adamantane 96 . La réduction de ce dernier par LiAlH_4 donne l'alcool correspondant 97 avec un rendement de 85 %. La transformation de cet alcool en bromure correspondant 98 doit être faite en milieu neutre ou basique car en milieu acide, le cycle trioxa adamantane s'ouvre relativement facilement selon le schéma :



Le traitement de 97 par le tribromure de phosphore en présence de pyridine n'a donné qu'un rendement de 16 % en bromure 98 . La bromuration par le mélange tétrabromure de carbone-triphényl phosphine dans

l'éther à température ambiante, procède en milieu neutre selon le mécanisme : (66)



Cette méthode particulièrement douce nous a fourni le bromure 98 avec un rendement de 50 % après purification chromatographique sur plaque de gel de silice.

III - δ AAL (¹⁴C-4)

Le rendement de la transformation en organomagnésien du bromure 98 a été déterminé après carbonatation de ce dernier avec ¹⁴CO₂ et mesure par radiochromatographie sur papier de la quantité d'acide succinique (¹⁴C-1) résultant de l'hydrolyse acide du produit réactionnel 100. La "grignardisation" du bromure 98 par la méthode classique, dans le THF, ou par réaction d'échange avec le bromure d'éthyl magnésium a échoué. Une tentative d'échange Br-Li (67) à l'aide de n-BuLi a été sans succès. Finalement, le réactif de Grignard 99 a été obtenu par une modification de la méthode d'entraînement (68 - 69) avec le bromure d'éthylène dans le THF. La carbonatation a donné le (β-carboxy éthyl)-3 trioxa-2,4,10 adamantane 100 avec un rendement de 80 % par rapport au ¹⁴CO₂. L'acide

100 a été transformé en son chlorure par action du chlorure de thionyle ou du chlorure d'oxalyle. Le chlorure d'acide est alors soumis à la réaction de Arndt-Eistert par l'action successivement du diazométhane dans l'éther puis de l'acide bromhydrique. La bromocétone 103 condensée avec le phtalimide de potassium dans la DMF donne le composé 104 dont l'hydrolyse chlorhydrique aboutit à δ AAL ($^{14}\text{C-4}$).

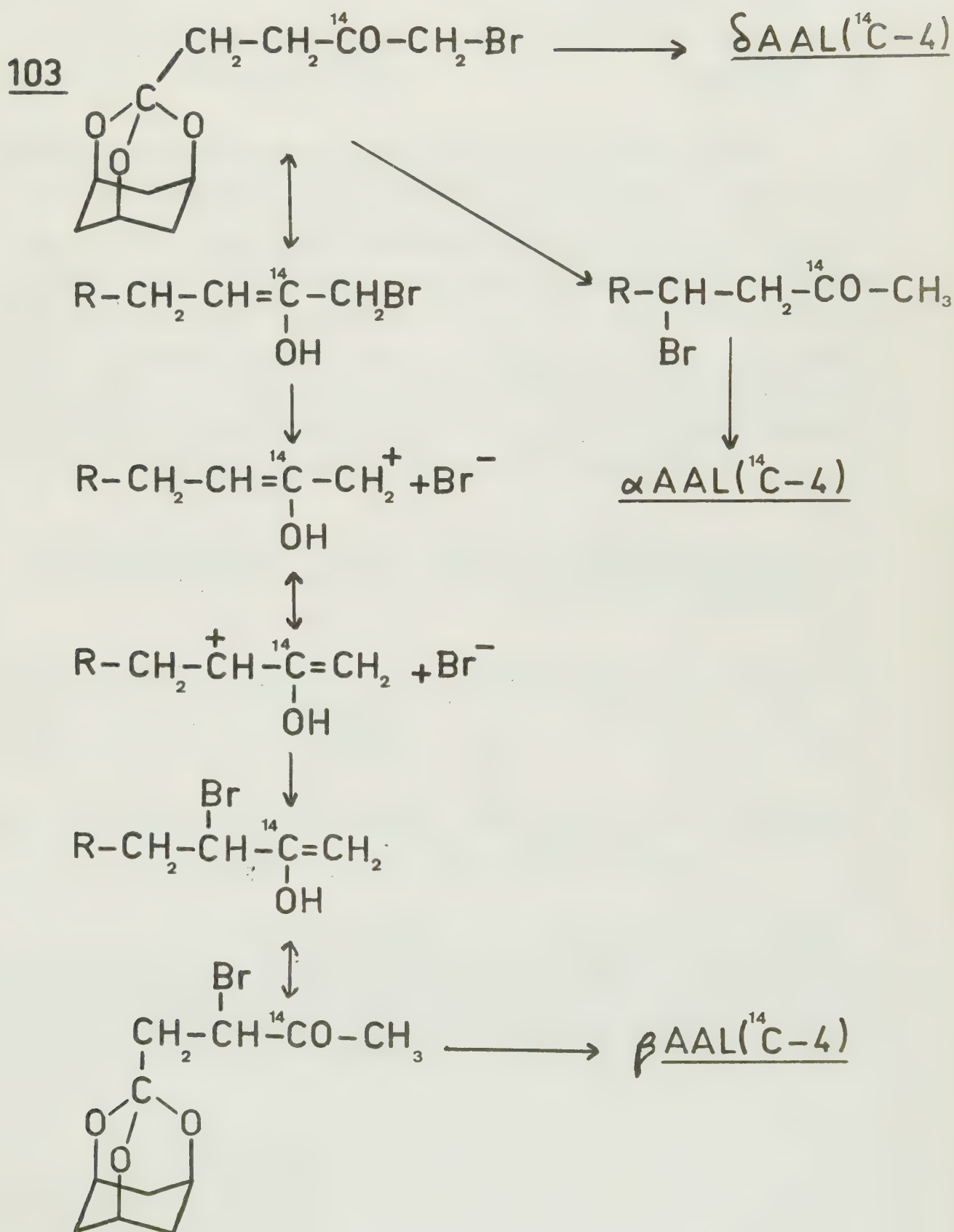
Les résultats des essais "traceurs" rapportés dans la partie expérimentale, donnent un rendement global en acides α AAL ($^{14}\text{C-4}$), β AAL ($^{14}\text{C-4}$) et δ AAL ($^{14}\text{C-4}$). En effet, la chromatographie préparative sur colonne Dowex 50 de l'essai radioactif n° 1 a permis d'isoler, à côté de δ AAL ($^{14}\text{C-4}$) (Rdt : 10 % / $^{14}\text{CO}_3\text{Ba}$), 10 % de β AAL ($^{14}\text{C-4}$) et environ 10 % de α AAL ($^{14}\text{C-4}$). Les structures de ces deux derniers composés ont été établies :

- a) par comparaison chromatographique directe sur papier avec des échantillons authentiques préparés par d'autres voies.
- b) par l'analyse des spectres RMN.
- c) par comparaison avec des échantillons authentiques sur auto-analyseur d'acides aminés.

La formation de ces isomères de δ AAL peut s'expliquer par l'isomérisation, en milieu fortement bromhydrique, à température ambiante, de la cétone bromée 103 lors de sa préparation par action de HBr utilisé en excès sur la diazocétone 102 selon le schéma du tableau n° 19. ^{p 168} Des isomérisations semblables ont été rapportées dans la littérature (24 , 25) en série aliphatique et nous mêmes avons déjà observé ce même phénomène (page 40). Nous avons pu éviter l'isomérisation de la cétone bromée 103 en opérant à 0°C et en employant un excès de 10 % seulement d'une

TABLEAU n° 19

Isomérisation de la bromocétone 103 :
synthèse de α, β, δ AAL($^{14}\text{C}-4$)



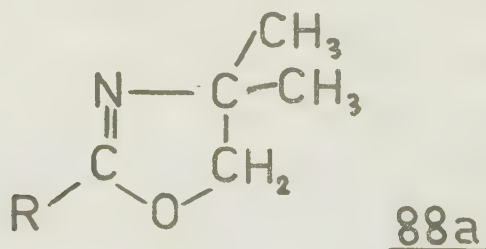
solution étherée anhydre de HBr lors de sa préparation à partir de la diazocétone 102. Dans ces conditions, δ A A L (^{14}C -4) chimiquement et radiochimiquement pur, est obtenu avec un rendement global de 36 % par rapport à $^{14}\text{CO}_3\text{Ba}$.

IV - Conclusion

La méthode précédemment décrite de synthèse de δ A A L (^{14}C) (page 127) donne un rendement de 70 % par rapport à la glycine(^{14}C) elle-même obtenue à partir de $^{14}\text{CO}_3\text{Ba}$ avec un rendement global d'environ 60 %. Les rendements comparés par rapport à $^{14}\text{CO}_3\text{Ba}$ de cette méthode et de celle que nous venons de décrire sont donc pratiquement équivalents. La méthode utilisant le trioxa-2,4,10 adamantane ne permet pas de synthétiser δ A A L (^{14}C -5). Elle n'en demeure pas moins très intéressante pour la synthèse de δ A A L (^{14}C -4) et met en lumière l'intérêt du groupe 88 comme fonction acide carboxylique protégée.

V - Essai de remplacement du groupe trioxa-2,4,10 adamantane par le groupe diméthyl-4,4 oxazoline

Le groupement diméthyl-4,4 oxazoline 88a est bien connu depuis



longtemps (70) et généralement facilement préparé par action des dérivés de l'amino-2 éthanol sur les acides carboxyliques (99 , 80). MEYERS et TEMPLE (100) ont montré que ce groupement était un précurseur potentiel

d'une fonction acide carboxylique ou ester, qu'il était peu dégradable par une élévation de température et inerte vis-à-vis de nombreux réactifs, en particulier vis-à-vis des organolithiens.

Nous avons essayé d'obtenir la (bromo-1 éthyl)-2, diméthyl-4,4 oxazoline 98' ($R = CH_2-CH_2-Br$) :

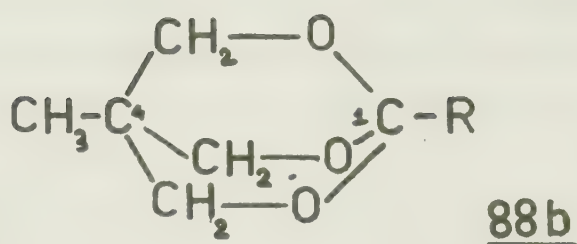
- selon (99), par chauffage à reflux d'un mélange équimoléculaire d'amino-2 méthyl-2 propanol et d'acide β -bromopropionique,
- selon (100) et (101) par condensation du chlorure de l'acide β -bromopropionique sur l'amino-2 méthyl-2 propanol, puis cyclisation par l'acide sulfurique,
- selon (102) par condensation entre l'acide β -bromopropionique et l'amino-2 méthyl-2 propanol et déshydratation à reflux dans le toluène (ou le xylène) avec distillation azéotropique de l'eau formée.

Dans tous les cas, nous avons obtenu par déhydrobromuration la vinyl-2 diméthyl-4,4 oxazoline ($R = CH_2=CH-$) et des polymères.

Signalons que dans la littérature, les essais tentés pour synthétiser un composé analogue : la (bromo-1 éthyl)-2 dihydro-1,3 oxazine n'ont pas abouti (160 , 37 et 149).

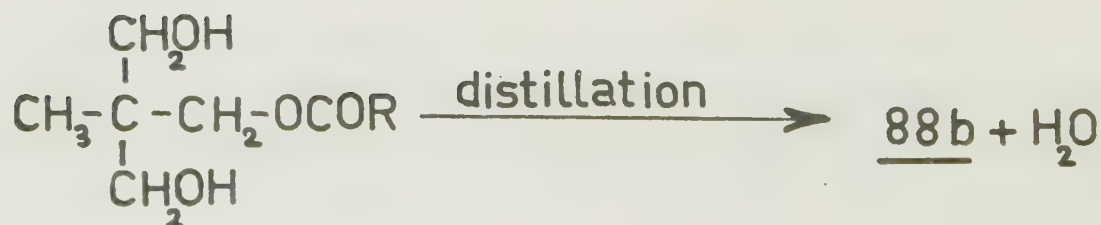
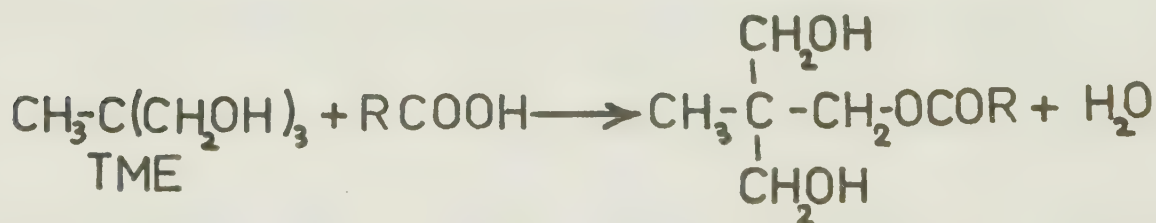
VI - Essai de remplacement du groupe trioxa-2,4,10 adamantane par le groupe méthyl-4 trioxa-2,6,7 bicyclo (2,2,2) octane.

Le groupe 88b peut protéger une fonction acide carboxylique, facilement régénérée en milieu acide. Dans la littérature, aucun travail ne signale son utilisation en synthèse organique et en particulier, il n'existe



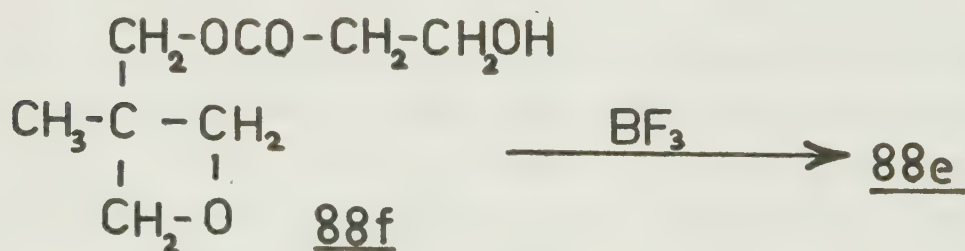
aucune donnée sur son comportement vis-à-vis des organométalliques et des réducteurs. Par rapport au groupe trioxa-2, 4, 10 adamantane il présente l'avantage d'être synthétisé à partir du triméthyl ol éthane (TME) : $\text{CH}_3\text{C}(\text{CH}_2\text{OH})_3$, produit commercial peu coûteux. Nous avons tenté d'obtenir le (bromo-1 éthyl)-1 méthyl-4 trioxa-2, 6, 7-bicyclo(2, 2, 2) octane 88c qui, traité ensuite comme 98, aurait conduit à δ AAL (^{14}C -4).

La condensation entre l'acide β -bromopropionique et le TME d'après un mode opératoire dérivé de (103) et (104) devrait se faire en deux étapes selon :



Dans tous les cas, nous avons abouti à une polymérisation du mélange réactionnel. Quant à la condensation entre le TME et le β -bromo orthopropionate de méthyle (voir page 165) non purifié, selon un mode opératoire identique à celui utilisé pour la synthèse du groupe 88 (en présence de BF_3), ~~elle~~ ne conduit à aucun résultat.

De la même façon, l'essai de synthèse de l'éthoxy carbonyl-méthyl-1 méthyl-4 trioxa-2, 6, 7 bicyclo(2, 2, 2) octane 88d selon (103) et (104) par action directe entre le TME et le monoester éthylique de l'acide malonique nous a conduit à des polymères. Par contre, nous avons pu obtenir 88d par une méthode originale de synthèse des bicyclo octanes 88b, par condensation entre le TME et le triéthoxy-3, 3, 3 acétate d'éthyle $(\text{OC}_2\text{H}_5)_3\text{CH}_2\text{-COOC}_2\text{H}_5$ dans l'éthanol à chaud, en présence de BF_3 . La réduction de 88d par LiAlH_4 (à chaud ou à température ambiante) amène une destruction complète du cycle bicyclooctane 88b. Par contre, la réduction par l'hydruure $\text{LiAlH}(\text{OC}_2\text{H}_5)_3$ conduit à l'ester d'oxéthane 88f qui peut être recyclisé en 88e en présence de BF_3 selon :



Nos essais pour halogéner l'alcool 88e en 88g ($\text{X} = \text{Br}$ par le mélange : tétrabromure de carbone - triphénylphosphine, $\text{X} = \text{Cl}$ par le mélange CCl_4 -triphénylphosphine, ou $\text{X} = \text{I}$ par l'orthophénylène phosphorodichlorite^(+I₂) selon (105)) n'ont pas conduit aux produits attendus. Il nous a donc été impossible d'utiliser ce groupement pour la synthèse de δ A A L (^{14}C -4).

VII - Interprétation des spectres RMN des dérivés du trioxa-2,4,10 adamantane

Les composés 98 à 104 que nous avons synthétisés sont nouveaux. Plusieurs d'entre eux ont été caractérisés par leur spectre RMN. Or l'attribution des pics observés n'est pas simple dans une première analyse. Nous avons estimé utile d'utiliser le tris (dipivalométhano) europium III pour l'attribution des protons à leurs pics correspondants.

Schématiquement, tous les spectres RMN des dérivés du trioxa-adamantane possèdent les pics suivants :

- 1 massif vers 4,3 ppm
- 1 doublet de deux massifs centré vers 2,5 ppm
- 1 doublet de deux massifs centré vers 1,8 ppm

Pour interpréter un tel spectre, nous nous sommes basés sur les résultats concernant les hydroxyadamantanes publiés par A.F. COCKERILL et D.M. RACKHAM (48) et (49). Le principe de la méthode est le suivant : l'addition à l'échantillon considéré de tris (dipivalométhano) europium provoque un déplacement des pics, donc une variation du déplacement chimique d'un atome considéré. Cette variation, due à une chélation de la molécule par le complexe d'euporium, varie linéairement en fonction du rapport des concentrations du complexe d'euporium et du composé étudié, pour des concentrations inférieures à 180 mg/ml. De plus, cette variation est d'autant plus grande que le proton considéré est plus près du centre de chélation. Si δ_E est le nouveau déplacement chimique où apparaît le signal d'un proton défini, nous pouvons écrire :

$$(\delta_E)_H = (\delta)_H + S_H \frac{(Eu)}{(Produit)} \quad (1)$$

où S_H est une constante qui dépend du proton considéré.

A. F. COCKERILL et D. M. RACKHAM ont prouvé que pour des composés hydroxylés, la chélation entre le complexe d'euporium et le composé a lieu au niveau de la fonction OH et que dans ce cas, si r_H représente la distance entre le centre de l'atome d'hydrogène H considéré et le périmètre de la paire d'électrons libres de l'atome d'oxygène du groupe hydroxyle, on a la relation :

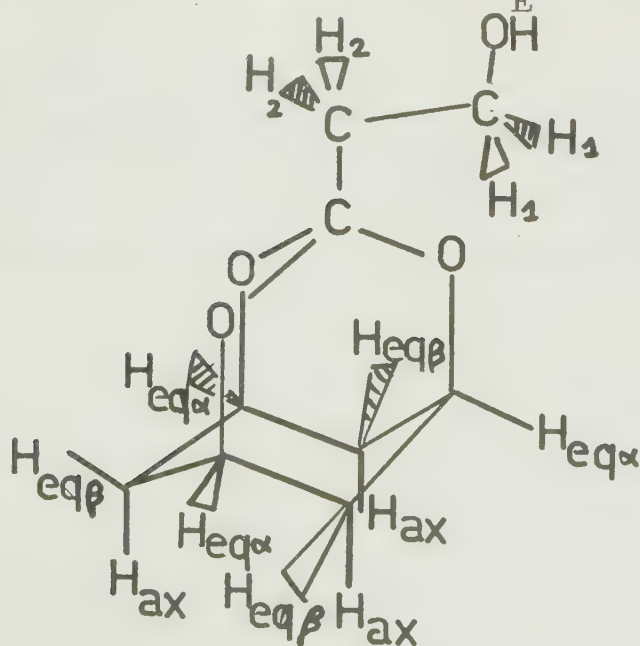
$$S_H = k r_H^{-2} \quad (2)$$

où k est une constante.

La méthode consiste donc à ajouter à un échantillon de concentration connue, des quantités connues de complexe d'euporium. La mesure de la variation du déplacement chimique pour chaque signal permet d'accéder à la distance entre le proton correspondant au signal et le groupe hydroxyle (au niveau duquel a lieu la chélation). Il suffit de reporter cette distance sur un modèle moléculaire représentant la molécule étudiée. Nous avons utilisé à cet effet un modèle moléculaire Prentice Hall.

Nous avons fait cette étude sur l'hydroxy-3 trioxa-2,4,10 adamantane 97 . Les spectres obtenus figurent dans les pages qui suivent.

Nous avons mesuré les $\delta_E - \delta$ suivants :



$\frac{\text{Eu}}{\text{Prod.}} =$		$\frac{1}{3}$	$\frac{2}{3}$	$\frac{3}{3}$
Signaux	A	0,42	1,25	1,96
	B	2,70	8,50	11,30
	C	0,40	1,44	1,94
	D	0,24	0,97	1,36
	E	0,46	4,38	6,13

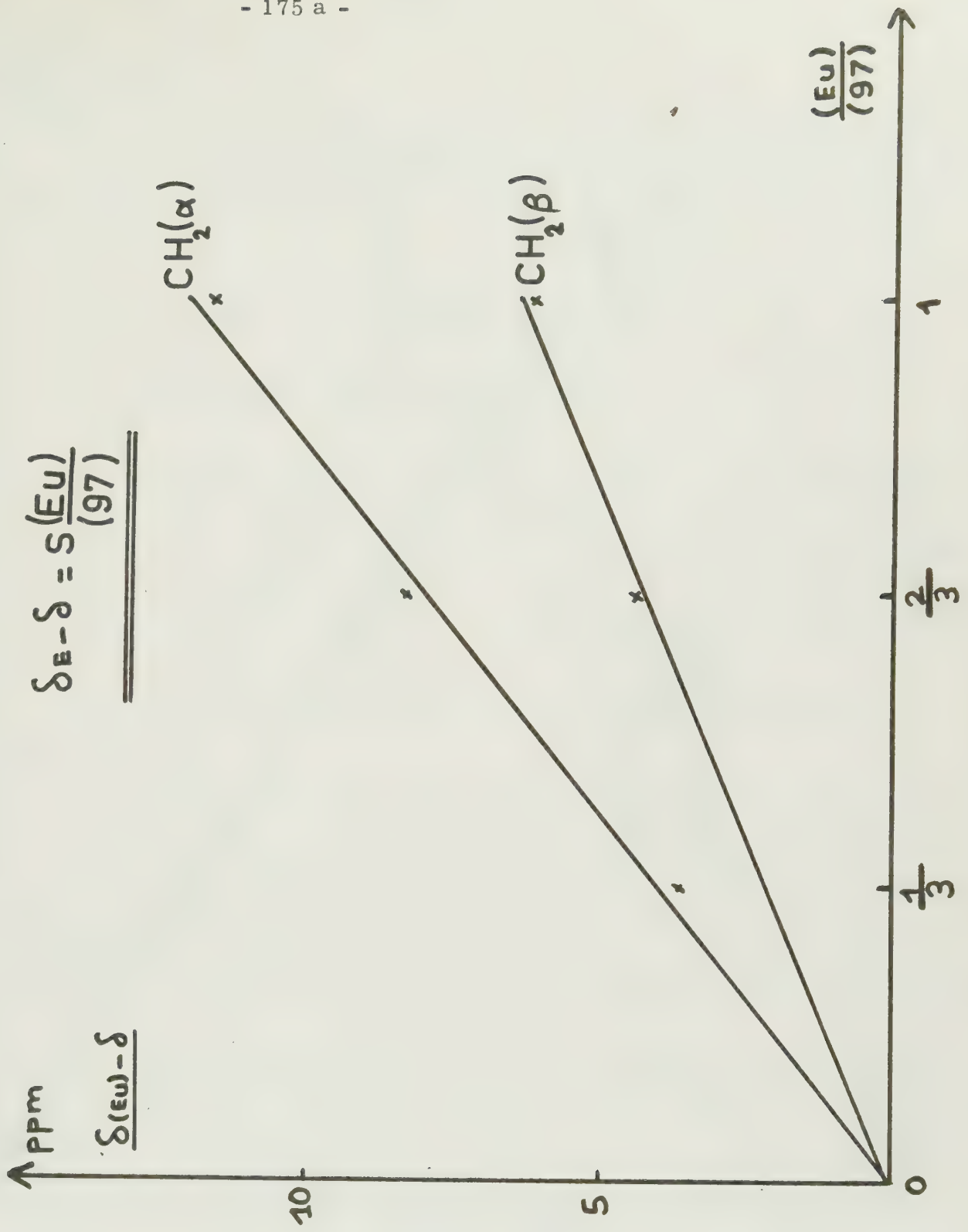
Nous avons tracé les droites

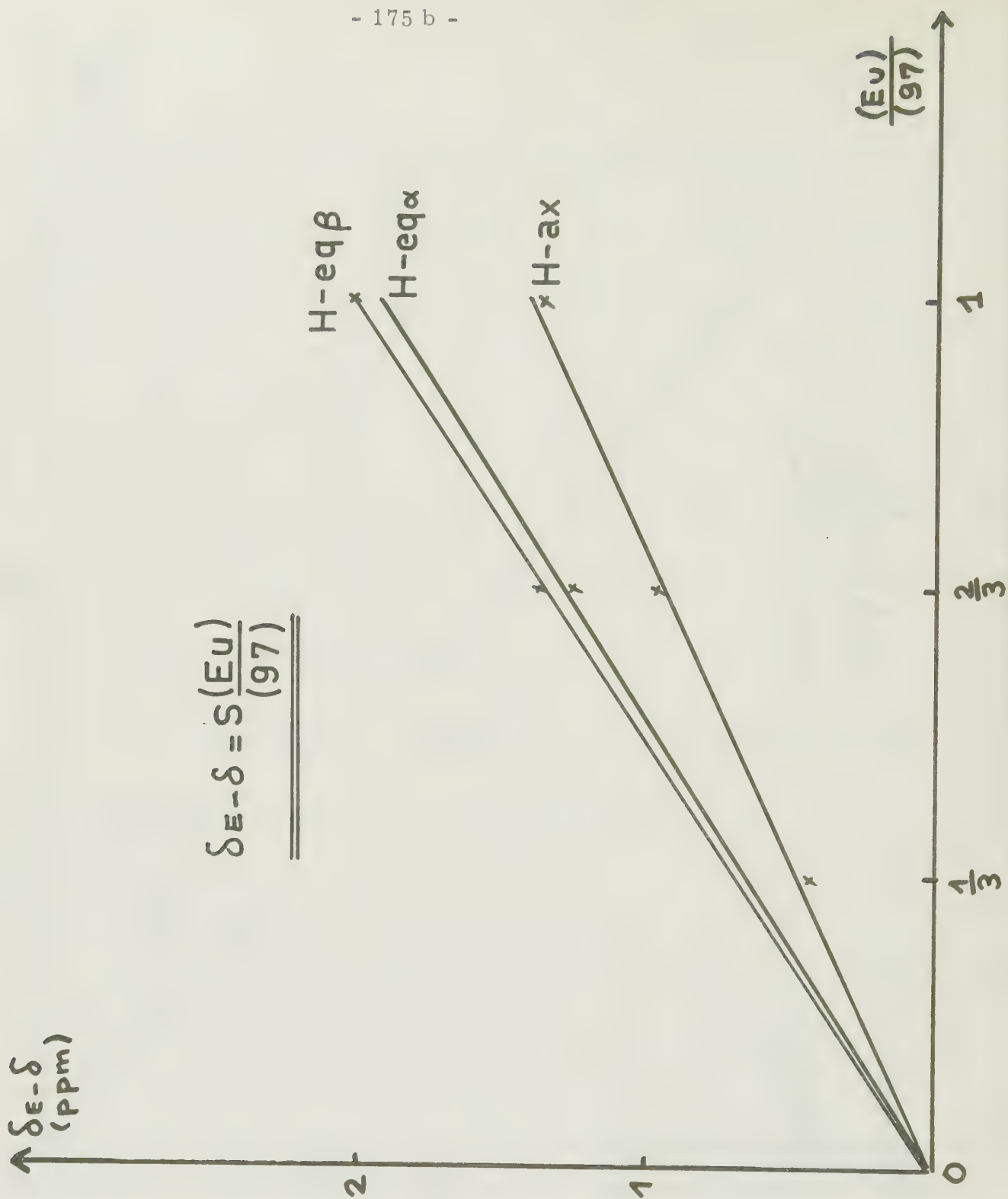
$$(\delta_E - \delta)_H = S_H \cdot \frac{(\text{Eu})}{(\text{Prod.})} \quad (\text{voir pages suivantes})$$

et nous en avons déduit la valeur de leurs pentes S , à savoir :

	A	B	C	D	E
S (ppm)	1,96	12,00	2,05	1,40	6,50

Nous voyons déjà que le signal D (le moins déplacé) correspond aux protons les plus éloignés du groupe hydroxyle, c'est-à-dire aux protons axiaux (car le groupe hydroxyle est considéré dans sa position la plus éloignée du trioxa adamantane) et le signal B (le plus déplacé) aux protons les plus proches (protons H_1).





En utilisant la formule (2) et en prenant à priori pour la distance r_{H_1} celle fournie par les publications (48 , 49), soit 2,37 Å , nous obtenons :

$$S_{H_1} = 12,00 \frac{k}{(2,37)^2} \quad k = 67,2$$

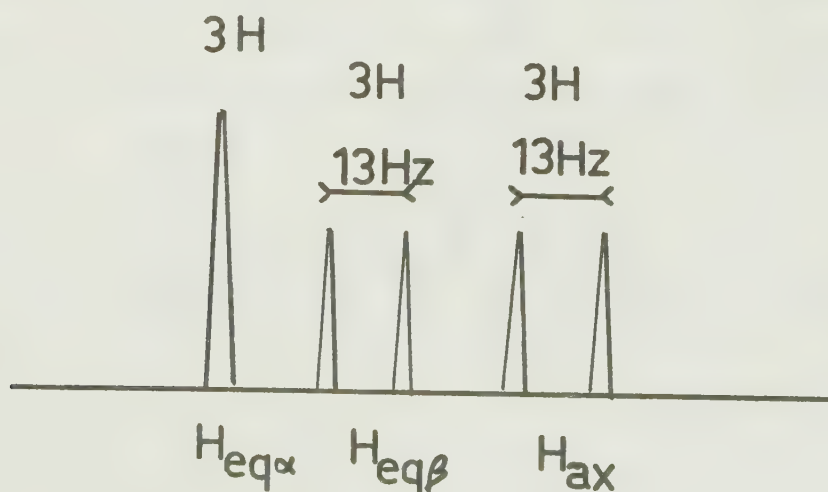
Nous en déduisons le tableau suivant :

	A	B	C	D	E
$r \text{ (Å)}$	5,88	2,37	5,73	6,93	3,22

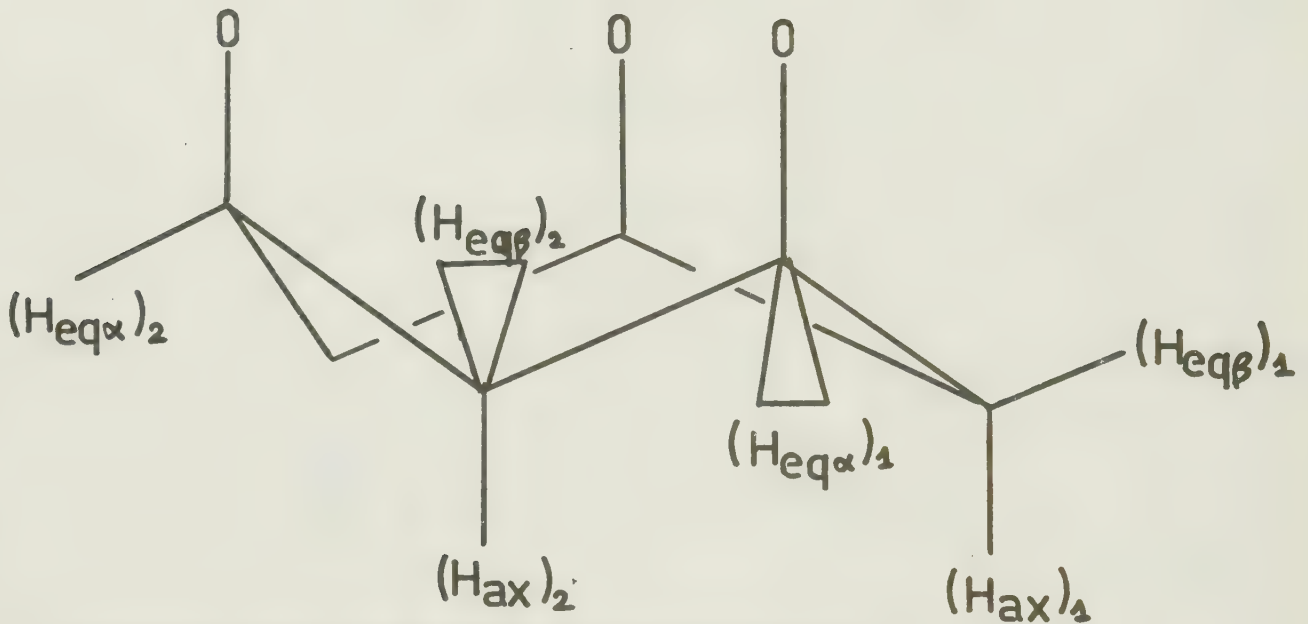
Sur le modèle moléculaire nous avons mesuré les distances suivantes :

	$H_{eq \beta}$	H_1	$H_{eq \alpha}$	H_{ax}	H_2
$r \text{ (Å) mesurées}$	5,95	2,37	5,9	7,2	2,9

Les valeurs calculées et mesurées coïncident en moyenne à 4 % près (sauf pour H_2). L'attribution des pics du trioxa adamantane est donc la suivante :

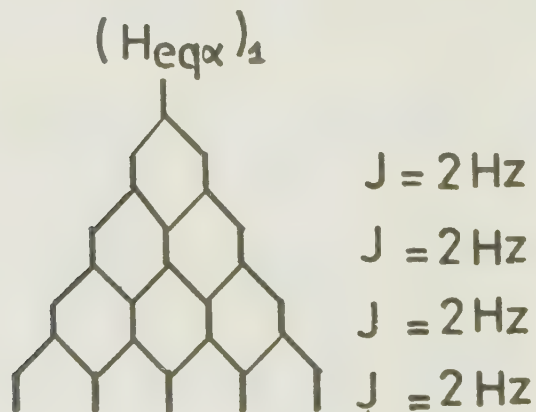


Ces résultats s'expliquent logiquement si on considère le schéma suivant :

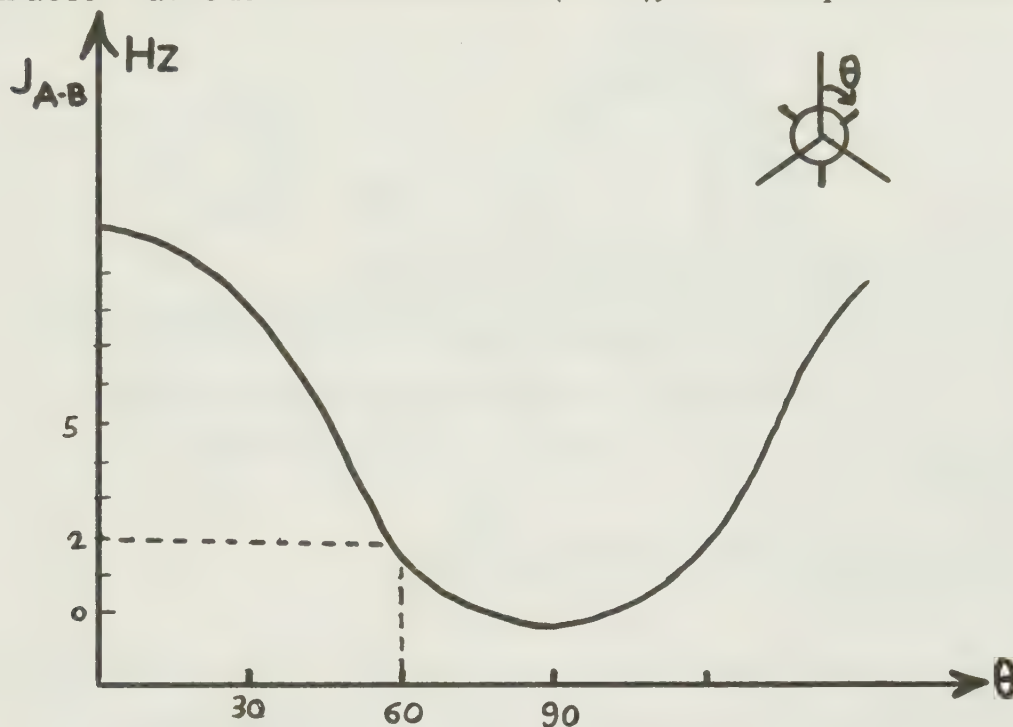


- Cas des protons équatoriaux α , par exemple $(H_{eq\alpha})_1$

Son signal est dédoublé par chacun des quatre protons $(H_{eq\beta})_1$, $(H_{ax})_1$, $(H_{eq\beta})_2$, $(H_{ax})_2$ et ceci avec une même constante de couplage qui est petite (2 Hz), ce qui nous donne :



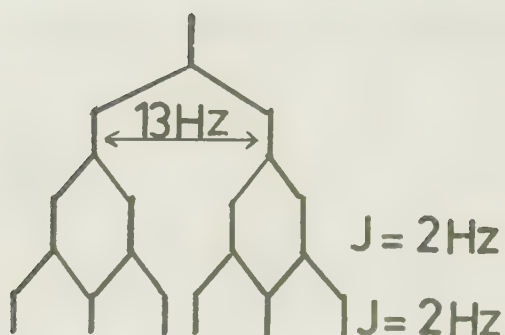
Cette valeur de 2 Hz de la constante de couplage vicinal est en accord avec la loi de KARPLUS (150), traduite par la courbe :



On obtient théoriquement 5 pics, mais les constantes de couplage étant petites, l'aspect général du signal peut être celui d'un massif ce qui est le cas. De plus, les protons équatoriaux α sont déblindés par l'oxygène voisin et doivent donc donner un signal vers les champs forts. C'est bien ce que nous obtenons expérimentalement.

- Cas des protons équatoriaux β , par exemple $(H_{eq\beta})_2$

Le signal de ce proton est dédoublé avec une grande constante de couplage (13 Hz) par $(H_{ax})_2$ puis doublé par chacun des protons $(H_{eq\alpha})_1$ et $(H_{eq\alpha})_2$ avec une très petite constante de couplage, ce qui nous donne :

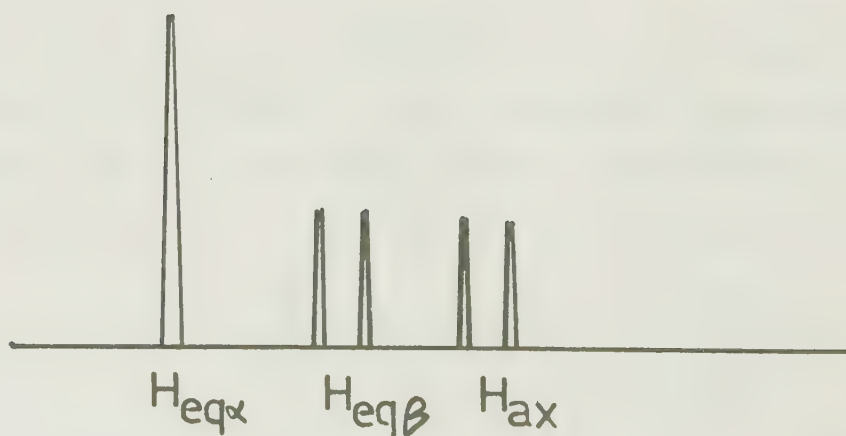


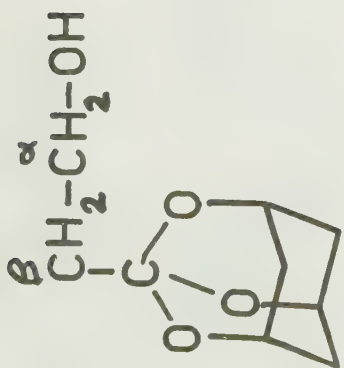
La structure théorique est celle d'un doublet de triplets qui, en fait, apparaît sur les spectres comme un doublet de deux massifs.

- Cas des protons axiaux, par exemple ($\text{H}\alpha\alpha_2$)

Comme pour les protons équatoriaux β , on obtient théoriquement un doublet de triplets, soit en pratique un doublet de deux massifs. Par contre ces protons sont moins déblindés par les atomes d'oxygène que les précédents. Leurs signaux apparaîtront donc vers des champs plus faibles.

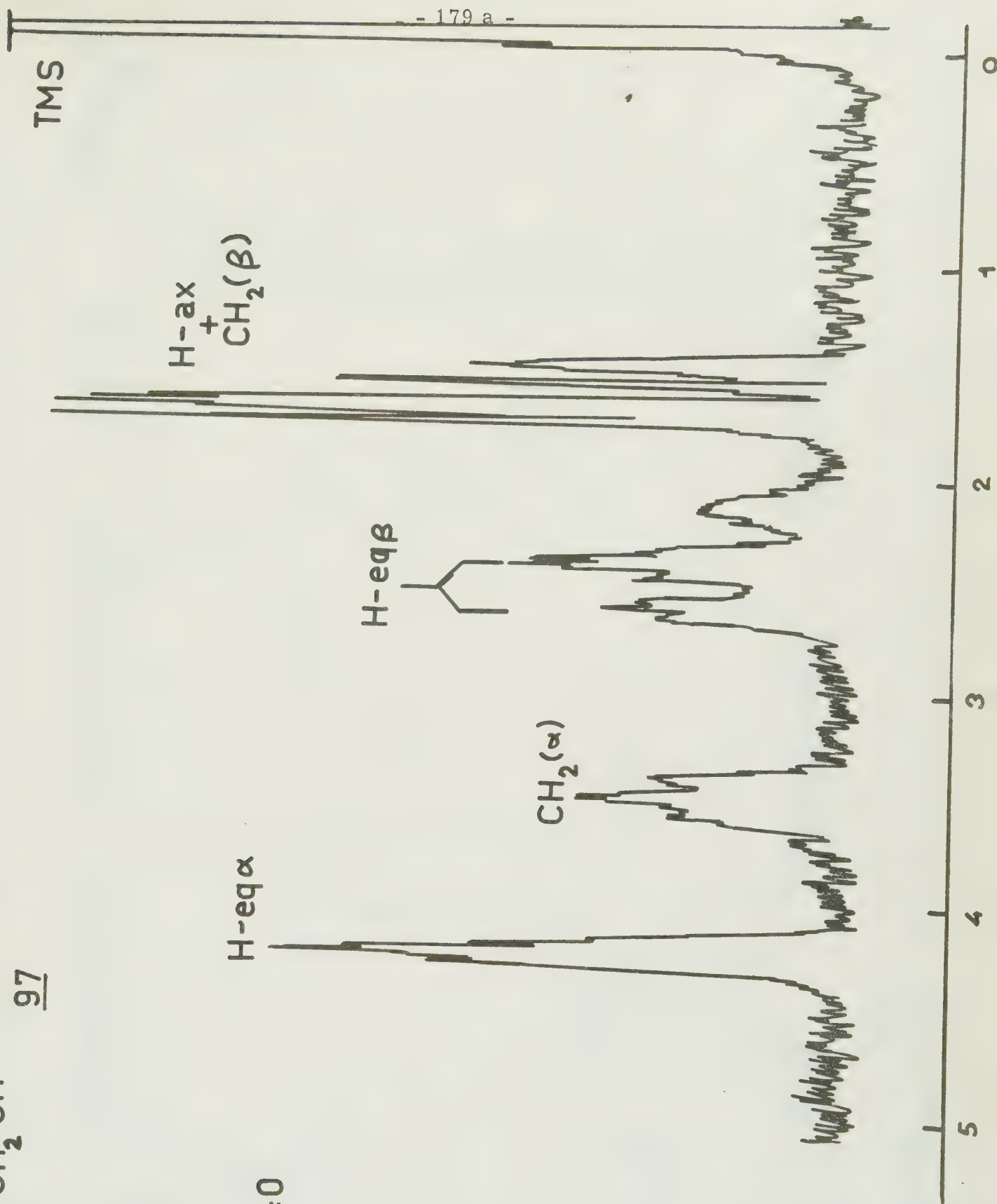
On aboutit donc à des conclusions identiques à celles obtenues avec le chélate d'euporium III, correspondant à la disposition suivante des signaux :

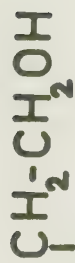




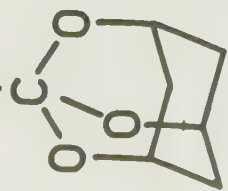
97

$$\frac{(Eu)}{(97)} = 0$$





97



$$\frac{(Eu)}{(97)} = \frac{1}{3}$$

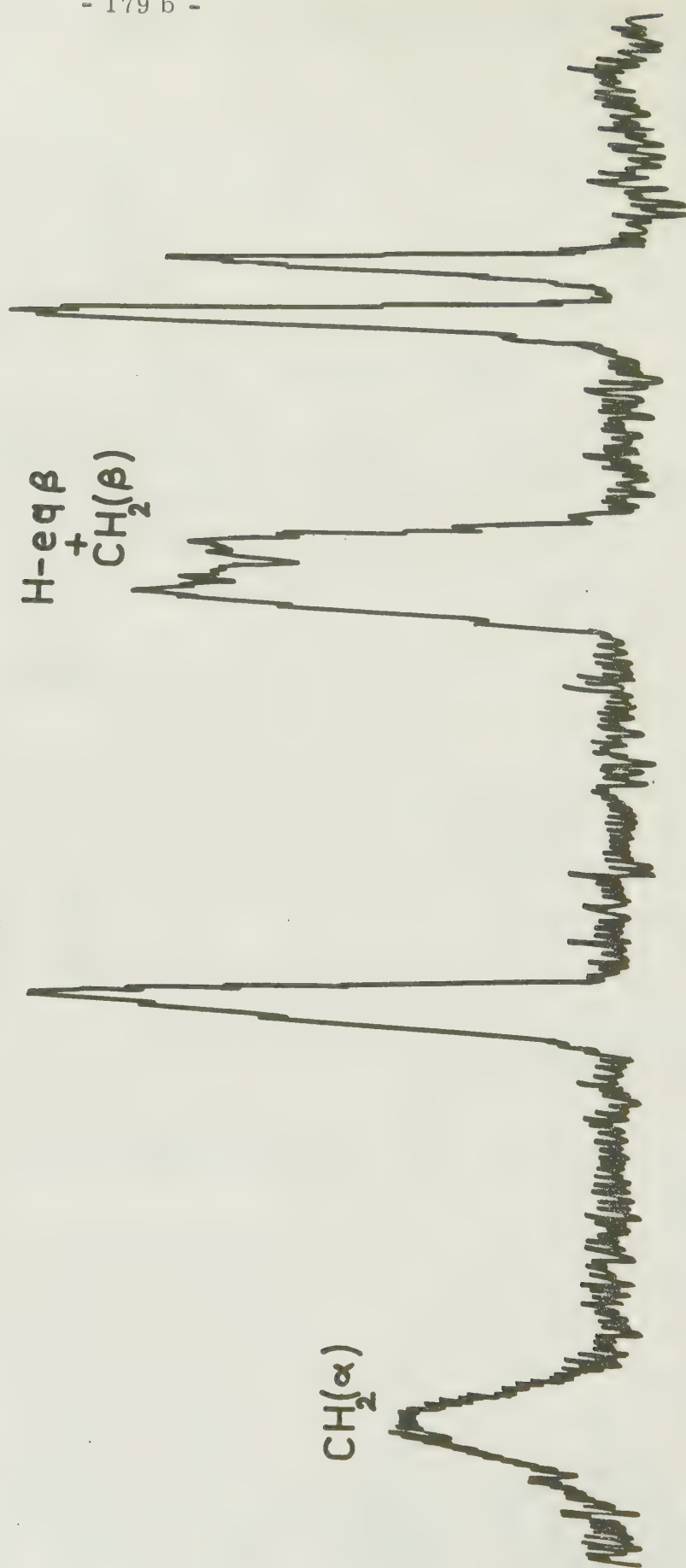
H-ax

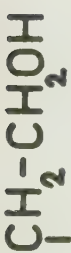


H-eqβ
+
CH₂(β)

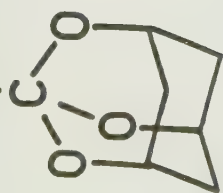
H-eqα

CH₂(α)





97



$$\frac{(Eu)}{(97)} = \frac{2}{3}$$

CH₂(α)

H-ax

H-eq α

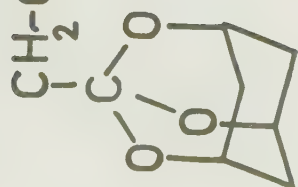
13

12 ppm

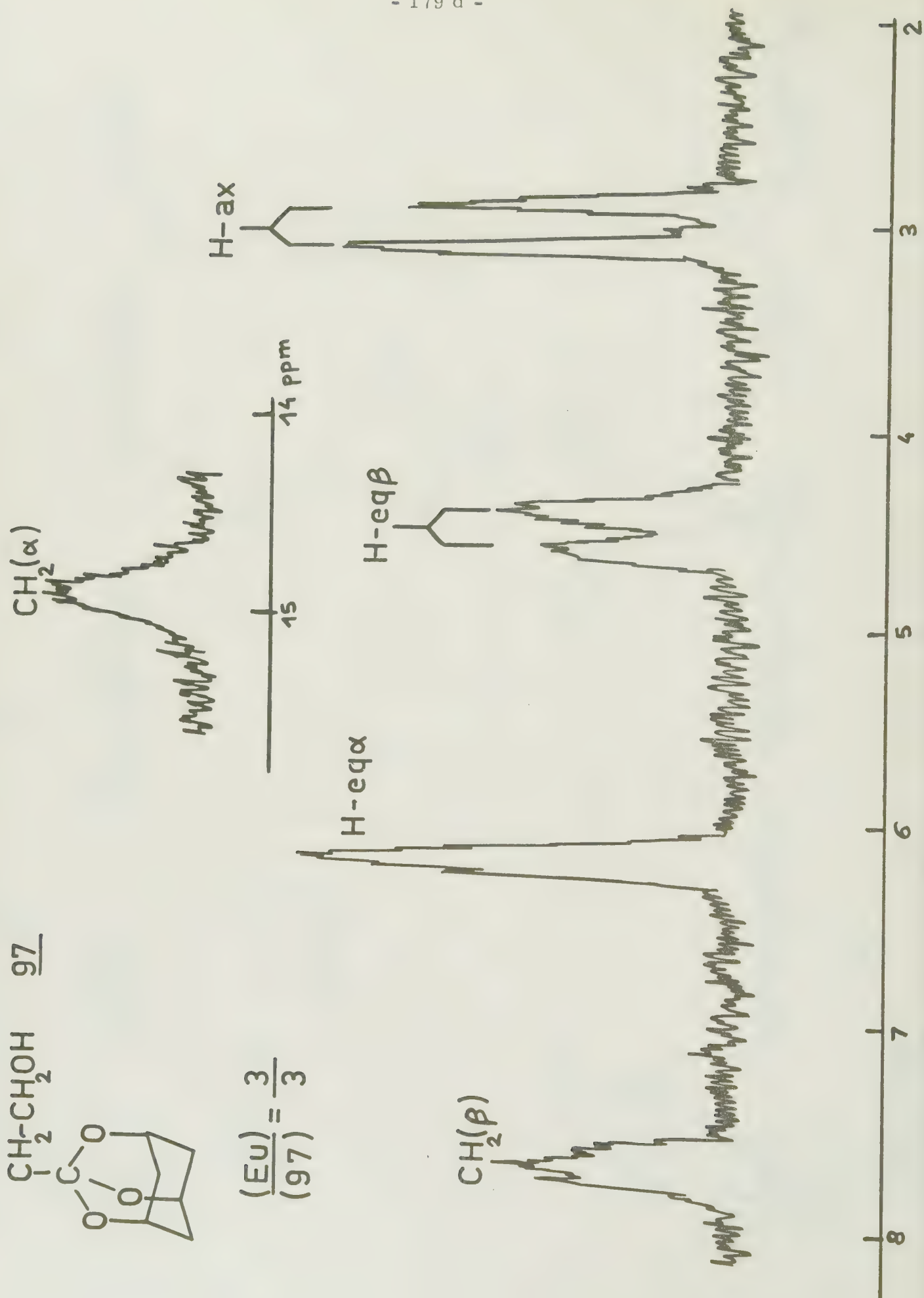
H-eq β

CH₂(β)





$$\frac{(Eu)}{(97)} = \frac{3}{3}$$



PARTIE EXPERIMENTALE

I - (Bromo-1 éthyl)-3 trioxa-2, 4, 10 adamantane 98

1 - Bromhydrate de β -propionimide d'éthyle 90 (162)

53 g (1 M) d'acrylonitrile fraîchement distillé sont dissous dans 46 g (1 M) d'éthanol anhydre et 150 ml d'éther anhydre. Sous courant d'azote, on agite et on fait barboter l'acide bromhydrique anhydre. Après saturation en HBr, on place au réfrigérateur. Rapidement une importante précipitation a lieu. On filtre sur buchner. Le produit obtenu, cristallisé et blanc, est reprecipité à partir d'une solution chaude d'acide acétique par addition d'éther. On obtient l'imide attendu avec un rendement quantitatif.

P.F. : 114°C

Spectre I.R. ($\nu \text{ cm}^{-1}$)

- CH_3 et CH_2 : 3040 - 2980 - 2880 - 1470 - 1360
- COC : 1150 - 1090
- C = NH : 1630

2 - Essai de préparation du β -bromo orthopropionate d'éthyle 91 :
éthoxy-3 propionate d'éthyle 91'

18 g (0,1 M) de l'imidate précédent sont dissous dans 140 ml d'éthanol anhydre et 280 ml d'éther anhydre. En l'absence d'humidité, on chauffe 36 heures à reflux. Après refroidissement, on filtre. Le filtrat, lavé par un égal volume de Na_2CO_3 à 10 % puis par 50 ml d'une solution saturée de Na_2CO_3 , est séché sur carbonate de potassium puis l'éther est évaporé. Le liquide restant est distillé sous vide. On recueille ($E_{0,1} = 30-32^\circ\text{C}$) un liquide ($n_D^{22} = 1,4060$) dont l'analyse élémentaire et le spectre I.R. correspondent à l'éthoxy-3 propionate d'éthyle 91'.

3 - β -bromoorthopropionate de méthyle

Le bromhydrate du β -bromopropionimide de méthyle est obtenu comme son homologue éthylique 90. 14 g de cet imide, 30 ml de méthanol anhydre et 7 ml d'éther anhydre sont chauffés 3 heures à 30°C . Après filtration, addition de 40 ml d'ammoniaque à 0,5 %, extraction à l'éther et lavage à l'eau, l'essai est porté à sec. On obtient ainsi l'orthoester impur (20 % d'impuretés environ).

. Spectre RMN (sans solvant)

$\delta = 3,84 \text{ ppm}$ (s - 4H - $\text{CH}_2 \text{CH}_2$), $\delta = 3,38 \text{ ppm}$ (s - 9H - OCH_3).

La condensation sur le chloroglucitol en présence de BF_3 (24 heures à température ambiante ou à reflux) a donné très peu de 98, comme l'indiquent les chromatographies sur gel de silice dans le solvant : Benzène-Acétate d'éthyle (6 - 4).

4 - Chlorhydrate du carboéthoxy-2 acétimide d'éthyle 94 (162)

113 g (1 M) de cyanacétate d'éthyle 93 fraîchement distillé et 36 g (1 M) d'éthanol anhydre fournissent, après barbotage d'acide chlorhydrique anhydre, 147 g (0,80 M) de l'imide 94 attendu.

P.F. = 105°C

. Spectre RMN (solvant : acétone deutériée)

$\delta = 4,75$ ppm (qa - J = 6,75 Hz - 2H - OCH₂), $\delta = 4,25$ ppm (qa - J = 6,75 Hz - 2H - CH₂), $\delta = 3,94$ ppm (s - 2H - CH₂), $\delta = 1,50$ ppm (t - J = 6,75 Hz - 3H - CH₂ CH₃), $\delta = 1,28$ ppm (t - J = 6,75 Hz - 3H - CH₂ CH₃).

5 - Triéthoxy-3,3,3 propionate d'éthyle 95 (162)

121 g (0,718 M) de 94 et un litre d'éthanol anhydre sont agités durant 48 heures à 25°C. Après filtration, l'essai est porté à sec puis distillé. $E_{0,1} = 83-86^\circ\text{C}$ - $n_D^{21} = 1,4190$ - $d^{21} = 0,984$.

Spectre I.R. (cm⁻¹) : 2980 - 2930 - 2900 - 1740 - 1360 - 1310 - 1230 - 1200 - 1070 - 1050 - 940.

. Spectre RMN : Il montre plusieurs triplets et quadruplets superposés et sortant entre 1,5 et 0,5 ppm.

Spectre de masse	m/e	26	27	28	29	31	42	43	45	115	133
	%	27	52	70	100	41	21	54	32	66	34

6 - Cis-trihydroxy-1,3,5 cyclohexane (ou phloroglucitol) 92

L'hydrogénation catalytique 46 de 100 g de phloroglucine (hydroxy-1,3,5 benzène) sur 20 g de nickel Ramey T₁ (65) dans 1 litre d'éthanol sous une pression de 100 kg d'hydrogène à 50°C a duré une semaine. Après filtration du catalyseur, 92 est obtenu par précipitation lors de la concentration de la solution éthanolique. Après recristallisation dans le dioxanne, son point de fusion est P.F. = 184°C. (Rdt = 40 %).

. Spectre RMN (solvant : pyridine deutériée)

$\delta = 6,22$ ppm (s - 3H - OH), $\delta = 4,00$ ppm (m - 3H), $\delta = 2,80$ ppm (doublet de multiplets - J = 11 Hz - 3H), $\delta = 1,82$ ppm (qa - J = 11 Hz - 3H).

7 - Ethoxycarbonylméthyl-3 trioxa-2,4,10 adamantane 96 (45 - 47)

59 g (0,25 M) d'orthoester 96 sont dissous dans 150 ml d'éthanol anhydre. On ajoute 28 g (0,21 M) de phloroglucitol 92, insoluble dans ces conditions. A l'abri de l'humidité, on ajoute quelques gouttes d'éthérate de trifluorure de bore. La réaction se traduit par la solubilisation du cis-phloroglucitol et est totale au bout de deux jours à température ambiante. On neutralise la solution avec du carbonate de potassium. On porte à sec et on reprend à l'éther. Cette solution est filtrée sur une colonne de 80 g d'alumine neutre WOELM (activité 1). Le solvant est chassé sous vide. Il reste une huile incolore pesant 51 g (0,225 M) soit un rendement de 90 %. L'évolution de la réaction peut être suivie par des chromatographies analytiques ^(sur) plaques de gel de silice dans le système de solvants : Cyclohexane - 7 - Acétate d'éthyle - 3 (Révélateur : permanganate de potassium à chaud), le R_f du produit final étant 0,45.

P.F. = 55°C

Spectre I.R. :

- trioxa adamantane : 1320 - 1130 - 1080 - 1050 - 950 - 930 - 910 (cm⁻¹)
- COOC₂H₅ : 1740

. Spectre de masse (intensités des pics entre parenthèses) :

29 (83) - 30 (100) - 41 (15) - 42 (22) - 43 (76) - 44 (17) - 67 (17) -
68 (19) - 96 (42) - 115 (94) - 133 (38) - 183 (13).

. Spectre RMN (solvant : chloroforme deutérié) :

$\delta = 4,60$ ppm (m - 3H - $H_{eq\alpha}$), $\delta = 4,38$ ppm (qa - 2H - $J = 6,75$ Hz - $COOCH_2$), $\delta = 3,66$ ppm (s - 2H - CH_2), $\delta = 2,72$ ppm (d. de m. - $J = 13$ Hz - 3H - $H_{eq\beta}$), $\delta = 2,08$ ppm (d. de m. - $J = 13$ Hz - 3H - H_{ax}), $\delta = 1,52$ ppm (t - $J = 6,75$ Hz - 3H - CH_3).

8 - (β -hydroxy éthyl)3 trioxa-2,4,10 adamantane 97 (47)

49 g (0,215 M) d'orthoester précédent 96, en solution dans 500 ml d'éther anhydre sont ajoutés goutte à goutte, sous courant d'azote, à une suspension de 15 g d'hydrure d'aluminium et de lithium dans 350 ml d'éther anhydre refroidi à 0°C car la réaction est violente. On chauffe ensuite 2 heures à reflux. Après refroidissement l'excès d'hydrure est détruit prudemment à l'eau et la solution aqueuse est extraite en continu à l'éther. La solution étherée est portée à sec, pour donner une huile qui cristallise rapidement sous vide. Le rendement est de 85 %/. L'alcool obtenu a un R_f de 0,15 pour des chromatographies sur plaque de gel de silice dans le système de solvants: Cyclohexane-7 - Acétate d'éthyle-3 (la tache est révélée en U.V. et au permanganate de potassium à chaud).

P.F. = 55°C

I.R. :

- trioxa adamantane : 1320 - 1140 - 1050 - 950 - 920
- OH : 3580

. Spectre de masse : $m = 41$ (12 %) - 43 (26) - 55 (15) - 67 (13) - 68 (13) - 73 (100) - 96 (26).

. Spectre RMN (solvant : CCl_4) :

$\delta = 4,34$ ppm (m - 3H - H_{eq}), $\delta = 3,60$ ppm (t - $J = 5,25$ Hz - 2H - CH_2), $\delta = 2,50$ ppm (d. de m. - $J = 13$ Hz - 3H - H_{eq}), $\delta = 1,60$ ppm (m - 5H - H_{ax} et CH_2).

9 - (β -bromo éthyl)-3 trioxa-2,4,10 adamantane 98

a) Par PBr_3 en présence de pyridine

1,9 g (10 mM) de l'alcool précédent 97 sont dissous dans 30 ml de benzène anhydre. On ajoute 221 mg (2,8 mM) de pyridine anhydre. A cette solution refroidie à 0°C, on ajoute goutte à goutte 1,138 g (4,2 mM) de tribromure de phosphore. On agite 30 minutes à 0°C, 3 heures à 25°C et 3 heures à 50°C. Les chromatographies sur plaque de gel de silice ou d'alumine dans le système de solvants : Benzène-6 - Acétate d'éthyle-4 (révélateur : permanganate à chaud) montrent que la réaction n'évolue plus après une heure de chauffage à 50°C. Sur plaque d'alumine, le R_f du bromure est de 0,75 (celui de l'alcool étant nul). Après refroidissement, l'essai est versé sur de la glace et la couche aqueuse extraite à l'éther. Les couches organiques réunies sont lavées par une solution de NaHCO_3 (10 %) et séchées sur Na_2SO_4 . Après évaporation du solvant, il reste une huile qui est chromatographiée sur colonne de gel de silice d'absorption. On élue par le système de solvants : Benzène-6 - Acétate d'éthyle-4 (débit:15 ml en 30 minutes). On isole ainsi deux composés :

1 - une huile incolore, dont le R_f sur plaque d'alumine est de 0,33. Ce composé contient du brome (essai à la flamme) mais son spectre I.R. présente une intense bande carbonyle à 1740 cm^{-1} . Il ne s'agit donc pas de 98.

2 - produit cristallisé blanc, dont le point de fusion est 89°C. Ce produit est caractérisé comme étant 98 . Le rendement n'est que de 16 % .

b) Par le mélange tétrabromure de carbone-triphénylphosphine (66)

20 g (0,108 M) de l'alcool précédemment obtenu 97 , sont dissous dans 300 ml d'éther anhydre. En boîte à gants, on ajoute 72 g (0,22 M) de tétrabromure de carbone, puis, après dissolution, 56 g (0,22 M) de triphénylphosphine. On agite pendant 6 heures à 25°C. L'important précipité obtenu est filtré sur buchner. Le filtrat est porté à sec. Il reste une huile qu'on purifie par passage sur une colonne de 500 g de gel de silice d'absorption WOELM éluee par le système de solvants : Benzène-6 - Acétate d'éthyle-4 (10 ml en 30 minutes). Le produit est peu retenu. Le solvant est chassé sous vide. Il reste 13 g (0,053 M) d'un produit cristallisé blanc 98 (Rendement : 50 %).

P.F. = 90°C

Analyse $C_9H_{13}O_3Br$

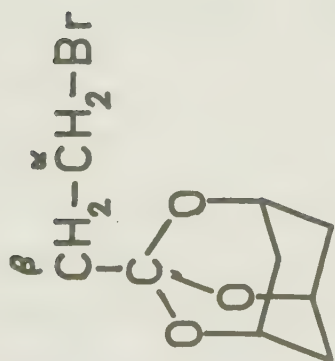
C : C % = 43,37 ; H % = 5,22 ; O % = 19,27 ; Br % = 32,13

Tr : C % = 43,14 ; H % = 5,48 ; O % = 19,88 ; Br % = 31,50

I.R. : trioxa adamantane : 1330 - 1140 - 1060 - 1000 - 950 - 910 (cm^{-1}).

Spectre RMN (solvant : CCl_4) :

$\delta = 4,32$ ppm (m - 3H - $H_{eq\alpha}$), $\delta = 3,42$ ppm (t - J = 9 Hz - 2H - CH_2), $\delta = 2,58$ ppm (d. de m. - J = 13 Hz - 3H - $H_{eq\beta}$), $\delta = 2,10$ ppm (t - J = 9 Hz - 2H - CH_2), $\delta = 1,64$ ppm (d. de m. - J = 13 Hz - 3H - H_{ax}).



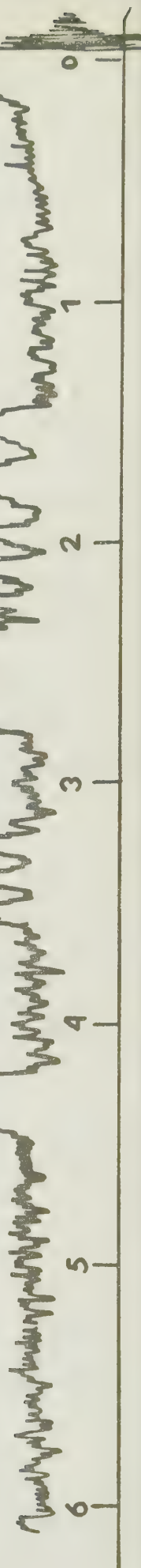
TMS

$\text{CH}_2\beta$ H-ax

H-eq β

$\text{CH}_2\alpha$

H-eq α



II - (β -Carboxy (^{14}C) éthyl)-3 trioxa-2,4,10 adamantane 100

1 - Essais d'obtention de l'organomagnésien 99

a) Dans le THF

996 mg (4 mM) de bromure 98 sont dissous dans 15 ml de THF anhydre. On ajoute 93 mg (4 mM) de magnésium sec. La réaction ne se produit pas, même en présence d'un cristal d'iode ou par addition d'iodure de méthyl magnésium. Par chauffage à 60°C, une réaction se produit et une partie du magnésium est consommée. Toutefois, après carbonatation et hydrolyse acide, on n'obtient pas d'acide succinique(^{14}C). Donc le magnésien 99 ne s'est pas formé.

b) Par échange avec le bromure d'éthyl magnésium

Ce dernier s'obtient facilement à partir de 436 mg (4 mM) de bromure d'éthyle et 93 mg (4 mM) de magnésium (dans le THF). Puis le bromure 98 en solution dans le THF est ajouté goutte à goutte à température ambiante. Il se forme un précipité. Après carbonatation et hydrolyse, on n'observe pas d'acide succinique.

c) Essai de formation de l'organolithien 98

996 mg (4 mM) de bromure (98) dans 30 ml de THF anhydre sont refroidis à - 70°C. A cette température, on ajoute 3 mM de butyllithium. On agite 20 minutes à - 70°C puis on carbonate. Dans ce cas non plus, l'acide succinique (^{14}C) ne se forme pas.

d) Par la méthode d'entraînement

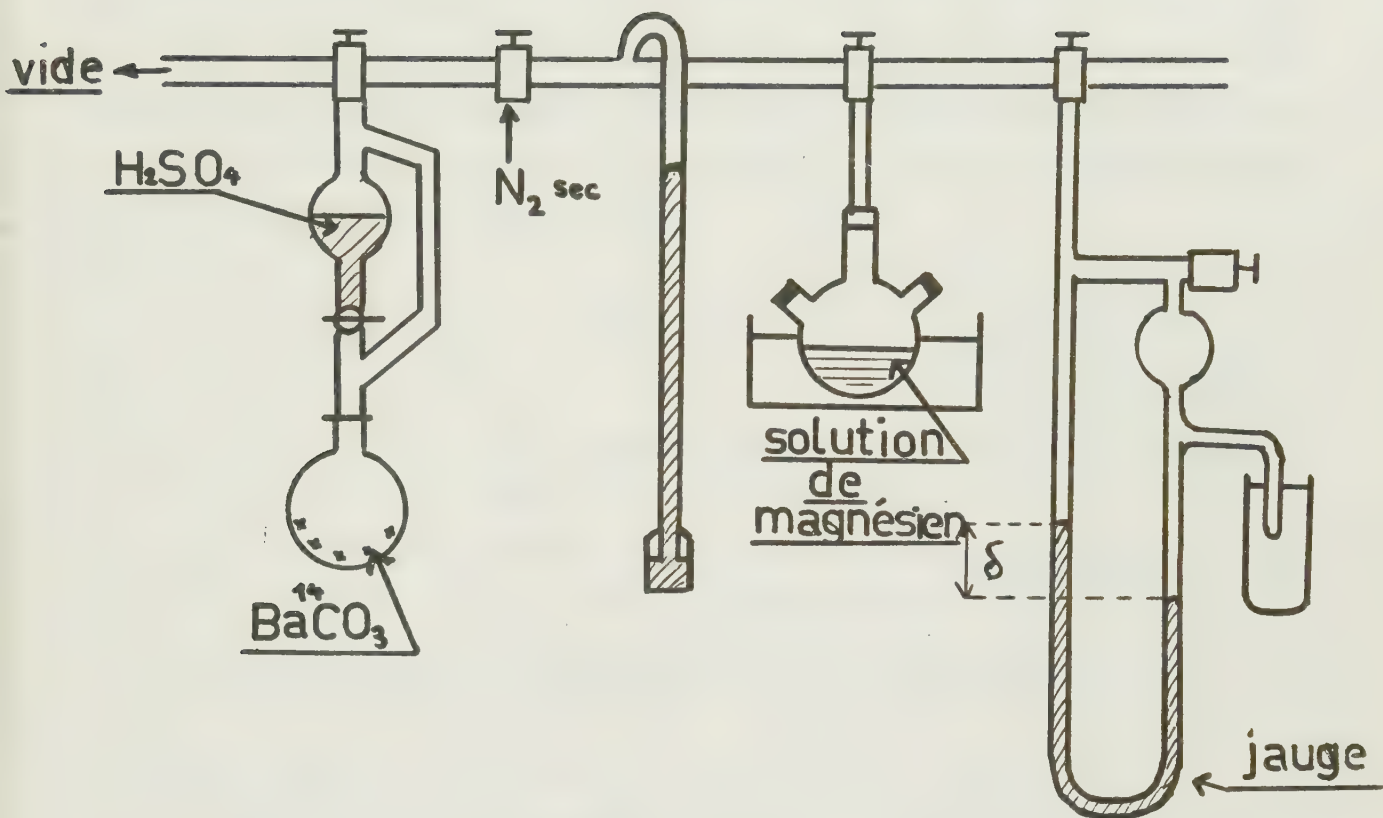
996 mg (4 mM) de bromure 98 sont dissous dans 50 ml de THF anhydre. On ajoute 279 mg (12 mM) de magnésium sec, puis, le ballon étant maintenu à une température de 20°C, on verse en 1 h 30, goutte à goutte, une solution de 1,504 g (8 mM) de bromure d'éthylène dans 10 ml de THF. Le bromure d'éthylène réagit sur le magnésium avec dégagement d'éthylène créant sur le métal des sites très actifs, capables de réagir à leur tour sur le bromure.

Après fin de l'addition, on agite à température ambiante jusqu'à ce que le dégagement gazeux d'éthylène cesse. Un important précipité apparaît. La solution refroidie est carbonatée. Après hydrolyse acide, les chromatographies montrent qu'on est en présence d'un seul pic actif, correspondant à l'acide succinique(¹⁴C).

C'est donc cette dernière méthode d'obtention de 99 que nous avons adoptée.



L'organomagnésien 99 obtenu en traitant 1,992 g (8 mM) de 98 par 583 mg (24 mM) de magnésium et 2,976 g (16 mM) de bromure d'éthylène, est carbonaté avec 2 mM de ¹⁴CO₂ obtenu dans l'appareillage suivant :



2 mM (394 mg) de carbonate de baryum (^{14}C) sont attaquées par l'acide sulfurique placé dans l'ampoule à égalisation de pression, tout l'appareillage étant préalablement placé sous vide secondaire. Le $^{14}\text{CO}_2$ dégagé est piégé dans le doigt de la jauge refroidi à l'azote liquide. La jauge permet ensuite de connaître le volume donc le nombre de millimoles du $^{14}\text{CO}_2$ dégagé. On vérifie ainsi que le rendement est quantitatif. Puis le $^{14}\text{CO}_2$ est transféré dans le ballon réactionnel contenant la solution de magnésien refroidie à l'azote liquide. Le ballon réactionnel est placé dans un bain à -20°C ; on agite une heure à cette température puis on hydrolyse par 10 ml d'eau et on chasse le THF à l'évaporateur rotatif. La solution aqueuse restante est extraite en continu à l'éther. Puis, on acidifie prudemment jusqu'à pH 5 par l'acide chlorhydrique 6N et on extrait en continu à l'éther.

Par évaporation du solvant, il reste un produit cristallisé blanc 100
(Rendement = 80 % par rapport à $^{14}\text{CO}_3\text{Ba}$). Il donne un seul pic actif sur
les enregistrements des chromatographies sur plaque de gel de silice
(Rf = 0,65) dans le système de solvants : Butanol-Acide acétique-Eau
(50 - 25 - 25).

Spectre I.R. (cm^{-1})

- CH_2 : 2950 - 760
- COOH : 1690
- trioxa adamantane : 1320 - 1130 - 1080 - 950 - 910.

III - δ AAL (^{14}C -4)

1 - (β -chlorocarbonyl (^{14}C) éthyl)-3 trioxa-2,4,10 adamantane 101

L'acide 100 est repris par 15 ml de benzène anhydre. On ajoute
5 ml de chlorure de thionyle purifié et on chauffe une heure à reflux. On
évapore sous vide le chlorure de thionyle en excès. Le chlorure d'oxalyle
utilisé à la place de SOCl_2 conduit à des rendements plus faibles en
 δ AAL (^{14}C -4).

2 - (diaz-4 céto-3 butyl)-3 trioxa-2,4,10 adamantane 102

Le chlorure d'acide 101 est repris par 20 ml d'éther anhydre
et cette solution est refroidie à 0°C . En l'absence d'humidité, on ajoute
8 mM de diazométhane anhydre en solution étherée. On agite 15 minutes
à cette température puis 30 minutes à 25°C . On porte à sec sous vide.

3 - (bromo-4 céto-3 butyl)-3 trioxa-2,4,10 adamantane 103

La diazocétone 102 en solution dans 10 ml d'acide acétique est traitée à 0°C, par un excès de 10 % d'acide bromhydrique en solution étherée. On agite une heure à cette température, puis on porte à sec pour obtenir la bromocétone attendue 103.

Initialement, nous utilisons l'acide bromhydrique concentré, à 48 % pour cette opération. Ce mode opératoire provoquait la dégradation de la molécule 103. Ainsi, des chromatographies sur plaques d'alumine dans le système de solvants : Butanol-Acide acétique-Eau (50 - 25 - 25) avant que l'essai ne soit porté à sec montrent une seule tache active (Rf = 0,70) alors qu'après cette opération, elles montrent quatre taches actives, celle ayant un Rf de 0,70 ne représentant plus que 48 % de l'activité. En utilisant une solution étherée d'acide bromhydrique, on évite cet inconvénient.

Nous avons aussi essayé de faire barboter HBr anhydre dans une solution étherée de la diazocétone (voir l'essai actif n° 1) pendant 10 minutes à température ambiante. Il se produit alors une isomérisation de la bromocétone donnant naissance à un mélange d'acides α , β et δ aminolévuliques ($^{14}\text{C}-1$).

La mise en oeuvre d'un excès de 10 % de HBr en solution étherée évite ces inconvénients.

4 - (Phtalimido-4 céto-3 (^{14}C) butyl)-3 trioxa-2,4,10 adamantane 104

On ajoute 50 ml de diméthylformamide fraîchement distillée à la cétone bromée 103, puis 500 mg de phtalimide de potassium et on chauffe 2 heures à 90°C. Après refroidissement, l'essai est porté à sec.

5 - δ AAL (^{14}C -4)

Le produit précédent 104 est hydrolysé par chauffage avec le mélange $\text{HCl}-\text{CH}_3\text{COOH}$ (50 - 50) durant 15 heures à reflux. Puis l'essai est porté à sec et repris par l'eau. On obtient une solution aqueuse de δ AAL (^{14}C -4) sur laquelle on réalise les comptages et les chromatographies. La purification et les contrôles sont identiques à ceux déjà effectués (page 53).

IV - Essais traceurs

Les résultats sont rassemblés dans le tableau suivant :

	RMg Br <u>99</u>		$^{14}\text{CO}_3\text{Ba}$		RCOOH <u>100</u>		* Rdt en $\alpha, +\beta$ + δ AAL (^{14}C -4)	Réactifs utilisés
1	996 mg	4 mM	5 mCi	10 mM	4 mCi	80 %.	15 %.	chlorure d'oxalyle HBr concentré
2	1,992 g	8 mM	5 mCi	4 mM	4 mCi	80 %.	18 %.	chlorure d'oxalyle HBr concentré
3	1,992 g	8 mM	2 mCi	1 mM	1,3 mCi	70 %.	14 %.	chlorure d'oxalyle HBr concentré
4	1,992 g	8 mM	3,5 mCi	0,95mM	3 mCi	85 %.	20 %.	barbotage de HBr (chlorure d'oxalyle)
5	1,99 g	8 mM	3,5 mCi	1 mM	3 mCi	85 %.	37 %.	chlorure de thionyle barbotage de HBr
6	2,8 g	13mM	3,5 mCi	0,95mM	3 mCi	85 %.	37 %.	chlorure de thionyle barbotage de HBr

* Déterminés par l'examen des chromatographies sur plaque de gel de silice (solvant : Butanol-Acide acétique-Eau (50 - 25 - 25)), système qui ne sépare pas les α , β et δ AAL.

V - Synthèses actives

1 - Essai actif n° 1

Le $^{14}\text{CO}_2$ (libéré de 5,25 mM de $^{14}\text{CO}_3\text{Ba}$ d'activité : 300 mCi) a fourni, par la carbonatation du magnésien 99 préparé à l'aide de 4,75 g (19 mM) de bromure 98, 1,39 g (57 mM) de magnésium et 3,34 ml (38,2 mM) de bromure d'éthylène, 249 mCi d'acide 100 soit un rendement de 83 %.

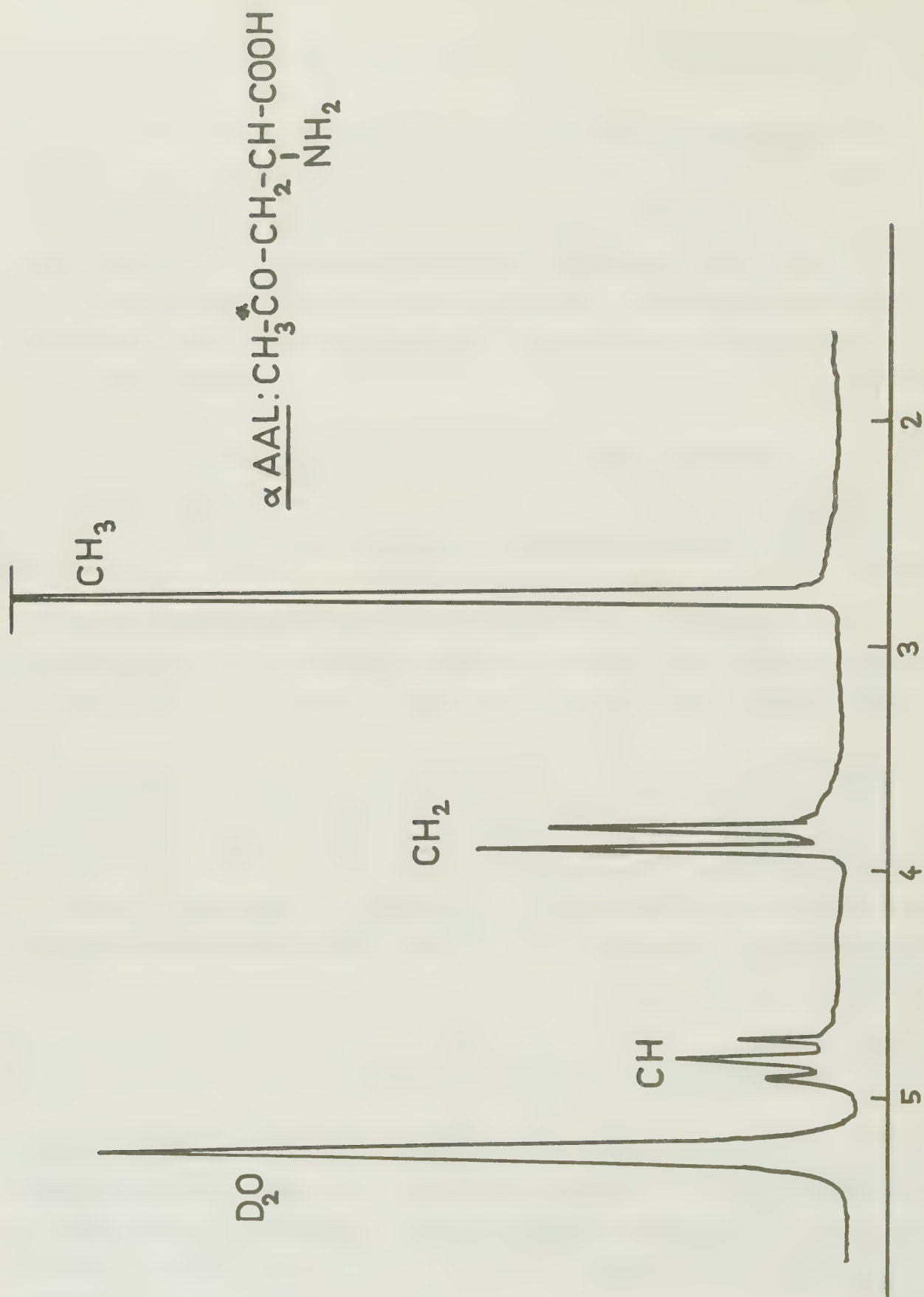
En fin de synthèse, on retrouve une activité de 117 mCi dont environ 53 % semblent correspondre d'après les chromatogrammes à δ AAL(^{14}C) ce qui représenterait un rendement global de 25 %.

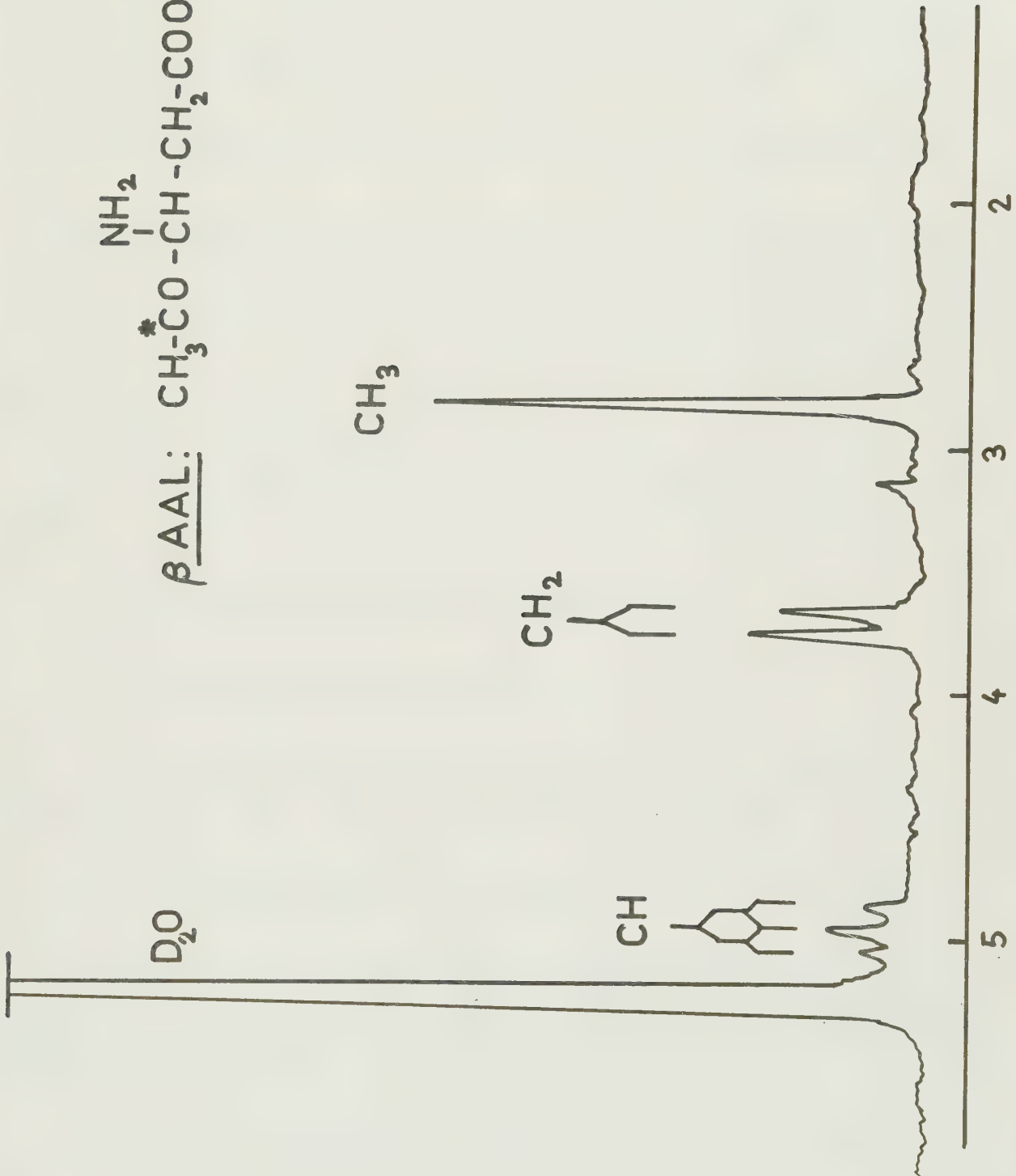
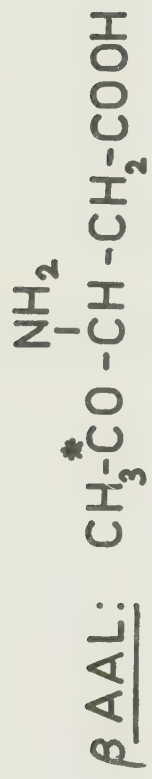
En fait, par purification sur colonne de résine Dowex 50, on obtient trois produits actifs ayant des temps de rétention très voisins sur cette colonne et sortant dans l'ordre suivant : β AAL, α AAL, δ AAL.

δ AAL ($^{14}\text{C-4}$) obtenu chimiquement et radiochimiquement pur correspond à 28,6 mCi (0,518 mM), ce qui représente un rendement global de 10 % seulement. La somme des activités de α , β et δ AAL ($^{14}\text{C-4}$) correspond à un rendement de 30 % par rapport au carbonate de départ puisqu'on obtient 30 mCi de α AAL $^{14}\text{C-4}$ (10 %) et 30 mCi de β AAL ($^{14}\text{C-4}$).

A - Identification de β AAL ($^{14}\text{C-4}$)

Nous avons utilisé un témoin de β AAL inactif dont la préparation est décrite page 54. Ce témoin et β AAL ($^{14}\text{C-4}$) obtenu dans notre essai actif ont été comparés par chromatographies, par passage sur auto-analyseur d'acides aminés et par RMN.





a) Chromatographies sur papier Whatman n° 1

Ils ont le même Rf dans les trois systèmes de solvants suivants :

- Butanol-Acide acétique-Eau (50 - 25 - 25) - Rf = 0,54
- t-Butanol-Méthyléthylcétone-Acide acétique-Eau (40 - 30 - 20 - 10)
Rf = 0,23
- Méthanol-nButanol-Benzène-Eau (40 - 30 - 20 - 10) - Rf = 0,60

De plus, tous deux sont révélés en violet à la ninhydrine .

b) Auto-analyseur d'acides aminés

Même temps de passage dans des conditions identiques, soit
1 h 15.

c) Spectres RMN (solvant : D₂O à 5,60 ppm)

Leurs spectres sont identiques.

$\delta = 5,32$ ppm (t - J = 5,25 Hz - 1H - CH), $\delta = 4,08$ ppm
(d - J = 5,25 Hz - 2H - CH₂), $\delta = 3,22$ ppm (s - 3H - CH₃).

B - Identification de α A A L (¹⁴C-4)

Nous avons synthétisé α A A L inactif par condensation de la bromoacétone sur le dérivé de l'acétamido malonate d'éthyle selon un mode opératoire déduit de (28).

a) Bromoacétone BrCH₂COCH₃

100 g d'acétone, 250 ml d'eau et 30 g de chlorate de potassium sont mélangés, agités, puis traités à 50°C par 160 g de brome. Après fin

d'addition, on chauffe 1 heure à 40°C et on laisse décantier. La couche inférieure est agitée avec de l'oxyde de magnésium MgO, puis distillée sous vide (sur MgO). $E_{50} = 64^{\circ}\text{C}$. Le rendement en bromoacétone est quantitatif.

b) Acide α -aminolévulique

4 g (20 mM) d'acétamido malonate d'éthyle sont dissous dans 40 ml de DME anhydre. On ajoute 860 mg (18 mM) d'hydrure de sodium à 50 % dans l'huile. On chauffe 4 heures à 80°C, on porte à sec, on reprend par 30 ml de benzène anhydre et on ajoute 1,34 ml (16 mM) de bromoacétone. On chauffe 8 heures à reflux et on porte à sec. On reprend au propanol-2 et on traite au noir de carbone à chaud. On concentre jusqu'à précipitation. On recristallise alors dans le propanol-2. Le produit obtenu (P.F. = 104°C) est hydrolysé 4 heures à 110°C par l'acide chlorhydrique 6N. On traite à chaud au noir de carbone et on porte à sec. On obtient ainsi 2 g (12 mM) de α A A L.

Le témoin et α A A L (^{14}C -4) ont été comparés par :

- auto-analyseur d'acides aminés

Même temps de rétention dans des conditions identiques, soit 1 heure (1 h 15 pour β A A L).

- chromatographies sur papier Whatman n° 1

Ils ont le même Rf dans les solvants suivants :

- . Butanol-Acide acétique-Eau (50 - 25 - 25) - Rf = 0,46
- . t-Butanol-Méthyléthylcétone-Acide acétique-Eau (40 - 30 - 20 - 10)
Rf = 0,175
- . Méthanol-nButanol-Benzène-Eau (40 - 30 - 20 - 20) - Rf = 0,42

Tous deux sont révélés en jaune à la ninhydrine.

- spectres RMN (solvant : D₂O à 5,25 ppm)

Les spectres des deux composés sont identiques :

$\delta = 4,84$ ppm (t - J = 5,25 Hz - 1H - CH-), $\delta = 3,88$ ppm
(d - J = 5,25 Hz - 2H - CH₂), $\delta = 2,75$ ppm (s - 3H - CH₃).

2 - Essai actif n° 2

L'organomagnésien 99 obtenu à partir de 1,52 g de bromure 98 et 0,445 g de magnésium, est carbonaté par 100 mCi de ¹⁴CO₂ (1,68 mM). Le rendement de la carbonatation est de 80 % ce qui correspond à 80 mCi (1,23 mM) d'acide 100. La diazocétone 102 est traitée à 0°C par 4 ml d'une solution étherée de HBr à 0,95 mM/ml (soit un excès de 10 % de HBr). On obtient dans cet essai n° 2, δ AAL (¹⁴C-4) chimiquement et radiochimiquement pur, avec un rendement global de 36 % par rapport à ¹⁴CO₃Ba initial, ce qui représente 36 mCi de δ AAL (¹⁴C-4) (0,55 mM).

VI - Essais d'utilisation du groupe diméthyl-4,4 oxazoline

1 - Première méthode selon (99)

15,3 g (100 mM) d'acide β -bromopropionique sont ajoutés à 0°C à 8,9 g (100 mM) d' amino méthyl propanol. Le mélange est ensuite chauffé à reflux. On constate que la température du mélange reste fixe à 170°C. Si on essaye de distiller, à pression ordinaire ou sous vide primaire, le mélange se polymérise. Si le mélange réactionnel n'est pas distillé, mais, après refroidissement, repris par l'eau et extrait à l'éther, il reste après évaporation du solvant, une huile.

Spectre RMN (sans solvant) : en accord avec R : CH₂ = CH-

$\delta = 6,18$ ppm (d - J = 6 Hz - 2H - CH₂=), $\delta = 5,52$ ppm

(t - J = 6 Hz - 1H - CH), $\delta = 3,52$ ppm (s - 2H - CH₂5), $\delta = 1,28$ ppm (s - 6H - CH₃).

2 - Deuxième méthode selon (100) et (101)

12,2 g (71,2 mM) du chlorure de l'acide β -bromopropionique dans 20 ml de chlorure de méthylène anhydre sont ajoutés à 0°C à une solution de 6,85 g (71,2 mM) d' amino-2 méthyl-2 propanol dans 40 ml de chlorure de méthylène anhydre. On agite une heure à 0°C puis l'essai est porté à sec et repris par 30 ml d'acide sulfurique. On chauffe 10 minutes à 60°C, puis on jette très prudemment sur 150 ml d'un mélange de glace et d'eau. On passe en milieu alcalin par addition de soude 15 % et on extrait en continu à l'éther. Après évaporation du solvant, on obtient un produit cristallin caractérisé comme étant la vinyl -2 diméthyl -4,4 oxazoline par son spectre RMN (solvant : CDCl₃).

3 - Troisième méthode selon (102)

15,6 g (100 mM) d'acide β -bromopropionique et 8,9 g (100 mM) d' amino-2 méthyl-2 propanol sont mélangés à 0°C dans 50 ml de benzène (ou de xylène). On chauffe ensuite à reflux avec distillation azéotropique de l'eau qui est recueillie dans un condenseur. Après 6 heures à reflux, on ne recueille plus d'eau et la quantité obtenue est inférieure à la quantité théorique. Dans le ballon réactionnel, une phase de densité supérieure à celle du solvant est apparue. Par refroidissement, elle donne un produit cristallisé qui est la vinyl -2 diméthyl -4,4 oxazoline comme le montre le spectre RMN (solvant : CDCl₃).

VII - Essais d'utilisation du groupe méthyl-4 trioxa-2, 6, 7 bicyclo(2, 2, 2)
octane

1 - (Bromo-1 éthyl)-1 méthyl-4 trioxa-2, 6, 7 bicyclo(2, 2, 2) octane 88c

a) Selon (103) et (104)

35 g (0,23 mM) d'acide β -bromopropionique et 27,6 g (0,23 mM) de TME sont chauffés à reflux durant 24 heures dans 100 ml de benzène en présence de 100 mg d'acide paratoluène sulfonique. L'eau distille azéotropiquement et est recueillie dans un condenseur. Après refroidissement, le solvant est évaporé et on tente de distiller l'huile restante dans une colonne à distiller sous vide primaire ou dans une colonne à bande tournante sous vide primaire. Dans les deux cas on distille quelques millilitres d'un produit présentant une bande carbonyle en I.R. Quant au reste du produit, il se polymérise dans le ballon réactionnel.

b) 10 mM de β -bromo orthopropionate de triméthyle (page 181) sont traités par 10 mM de TME, dans 50 ml d'éthanol anhydre en présence de BF_3 (à température ambiante ou à reflux). La condensation n'a jamais été observée.

2 - Ethoxy-carbonylméthyl-1 méthyl-4 trioxa-2, 6, 7 bicyclo(2, 2, 2)
octane 88d

a) Première méthode selon (103)

30 g (250 mM) de TME et 30,4 g (230 mM) du monoester éthylique de l'acide malonique sont chauffés 15 heures à reflux dans 100 ml de benzène anhydre en présence de 200 mg d'acide paratoluène sulfonique. L'eau distille

azéotropiquement et est recueillie dans un condenseur. Après évaporation du solvant, les différents essais de distillation se traduisent par une polymérisation du mélange réactionnel.

b) Deuxième méthode

5,2 g (44 mM) de TME et 10,4 g (44 mM) de triéthoxy-3,3,3 propionate d'éthyle (voir page 182) sont chauffés 15 heures à 60°C dans 20 ml d'éthanol anhydre, en présence de quelques gouttes de trifluorure de bore. Après refroidissement, on porte à sec. Il reste une huile qui, placée sous vide, cristallise lentement. Le précipité est filtré et lavé à l'hexane froid.

P.F. = 60°C

Spectre I.R. :

- CH₂ : 2980 - 2950 - 2880 - 1460 - 1400 - 1040 980
- C-O-C : 1280 - 1180 - 1110
- COO- : 1740 - 940
- C-CH₃ : 1380

<u>Analyse</u> C ₁₀ H ₁₆ O ₅	Théor.	C °/.	55,44	-	H °/.	7,46
	Trouv.	C °/.	55,59	-	H °/.	7,76

Spectre RMN (solvant : CCl₄)

δ = 4,00 ppm (qa - J = 7,5 Hz - 2H - COOCH₂), δ = 3,78 ppm (s - 6H - OCH₂), δ = 2,48 ppm (s - 2H - CH₂), δ = 1,18 ppm (t - J = 7,5 Hz - 3H - COOCH₂CH₃), δ = 0,76 ppm (s - 3H - CH₃⁻⁴).

3 - (β -hydroxy éthyl)-1 méthyl-4 trioxa-2, 6, 7 bicyclo(2, 2, 2) octane 88e

2 g (9,3 mM) de l'ester sont ajoutés goutte à goutte à une suspension de 3,4 g (20 mg) de l'hydrure d'aluminium, de lithium et de triéthoxy $\text{LiAlH}(\text{OC}_2\text{H}_5)_3$ en suspension dans l'éther. On agite 15 heures à température ambiante, puis on détruit l'excès d'hydrure à l'eau et la couche aqueuse est extraite à l'éther. Après évaporation du solvant, on obtient l'ester d'oxéthane 88f sous forme d'un produit huileux (Rendement : 80 %).

Spectre RMN (solvant : D_2O)

$\delta = 4,55$ ppm (s - 2H ; C - CH_2 -O), $\delta = 4,30$ ppm (t - J = 7,5 Hz - 2H - CH_2OD), $\delta = 4,00$ ppm (s - 4H ; C - CH_2 -O), $\delta = 3,18$ ppm (t - J = 7,5 Hz - 2H - CH_2), $\delta = 1,44$ ppm (s - 3H - CH_3).

On recycle cet ester d'oxéthane 88f selon (103) par chauffage durant 15 heures à 100°C dans 1 ml d'une solution à 19 % de trifluorure de bore dans le méthanol. On obtient ainsi l'alcool attendu 88e.

Spectre RMN (solvant : D_2O à 5,25 ppm) :

$\delta = 4,00$ ppm (t - J = 7,5 Hz - 2H - CH_2OD), $\delta = 3,65$ ppm (s - 6H - CH_2 -3,5,8), $\delta = 2,78$ ppm (t - J = 7,5 Hz - 2H - $\text{CH}_2\alpha$), $\delta = 1,02$ ppm (s - 3H - CH_3).

CHAPITRE XI

MODIFICATION DE LA SYNTHÈSE PRÉCÉDENTE

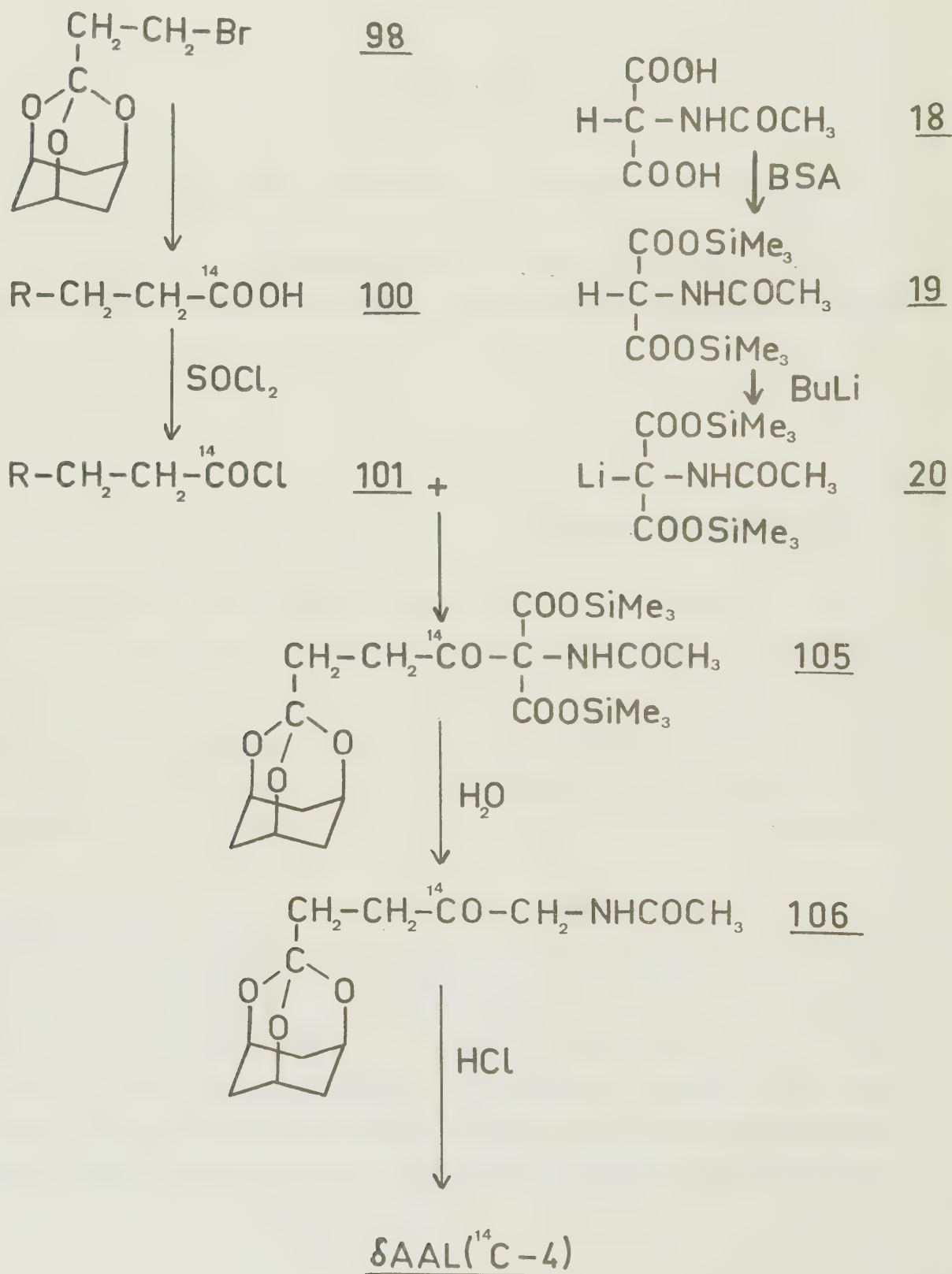
SYNTHÈSE DE δ AAL (^{14}C -4) UTILISANT LE GROUPE TRIOXA-2, 4, 10 ADAMANTANE ET L'ACÉTAMIDO MALONATE DE TMS

- Présentation de la méthode

Dans le schéma réactionnel du tableau n° 20, on condense le chlorure de l'acide (β -carboxy éthyl)-3 trioxa-2, 4, 10 adamantane 100 sur le dérivé lithié 20 de l'acétamido malonate de TMS 19 dont les synthèses ont déjà été décrites. Par rapport à la méthode précédente (page 160) les réactions sont plus simples et surtout, le nombre d'étapes actives est diminué (4 au lieu de 6) ce qui favorise une augmentation du rendement.

De plus, on évite la formation des α AAL (^{14}C -4) et β AAL (^{14}C -4). Les résultats sont rapportés dans le tableau page 205. Les rendements en δ AAL (^{14}C -4) par rapport à $^{14}\text{CO}_3\text{Ba}$ sont de l'ordre de 55 %, donc nettement supérieurs à ceux de la synthèse précédente. Mais cette nouvelle méthode pose le problème de la purification de δ AAL (^{14}C -4) qui est accompagné d'une quantité très importante de glycine inactive, formée lors de l'hydrolyse de l'acétamidomalonate de TMS utilisé en excès. On peut

Synthèse de δ AAL(^{14} C-4) utilisant le groupe trioxaadamantane et l'acétamido malonate de TMS



parvenir à séparer δ A A L (^{14}C -4) de la glycine par plusieurs passages successifs sur résine Dowex 50 W X12 dans les conditions habituelles. Une autre méthode consiste, après hydrolyse à l'eau, à extraire la couche aqueuse (pH voisin de 4) par l'éther. L'acide acétamidomalonique très soluble dans l'eau et peu soluble dans l'éther, est peu extrait. Les couches étherées sont alors réunies et il suffit d'hydrolyser par HCl 6N. Dans ces conditions, on peut penser que δ A A L (^{14}C -4) finalement obtenu sera accompagné d'une quantité restreinte de glycine.

Un excès moindre d'acétamidomalonate de TMS 19 permettrait peut-être de faciliter la purification, en donnant moins de glycine à séparer, sans que le rendement soit diminué.

PARTIE EXPERIMENTALE

I - Mode opératoire

2,9 g (10 mM) d'acétamido malonate de TMS 19 (page 84) en solution dans 10 ml d'éther anhydre sont refroidis à - 60°C et traités pendant 5 minutes à cette température par 5 mM de BuLi pour donner l'organolithien 20 .

549 mg (2 mM) de (chlorocarboxyéthyl)-3 trioxa-2,4,10 adamantane 101 (page 190) en solution dans 40 ml de DME anhydre sont ajoutées goutte à goutte à la solution de 20 maintenue à - 60°C. Après fin d'addition, on laisse la température remonter et on agite 15 heures à température ambiante. On ajoute 10 ml d'eau puis l'essai est porté à sec et hydrolysé par 30 ml d'acide chlorhydrique 6N (8 heures à reflux). On porte à sec et on reprend par l'eau. On obtient une solution aqueuse de δ AAL(¹⁴C-4), sur laquelle on réalise les comptages et chromatographies dans les solvants précédemment cités (page 53) .

II - Essais traceurs

L'enregistrement de l'activité des chromatogrammes et les dosages sur auto-analyseur d'acides aminés fournissent les rendements suivants :

	$^{14}\text{CO}_2$		Acétamido malonate de TMS $\underline{\underline{19}}$		BuLi	$\overset{14}{\text{R}}\text{COCl}$ $\underline{\underline{101}}$			$\delta \text{AAL}(\overset{14}{\text{C}}-4)$		Rdt
1	2,5mM	2,1mCi	2,9g	10mM	5 mM	465mg	2 mM	1,7mCi	1,4mM	1,2mCi	56 %.
2	2 mM	2 mCi	2,9g	10mM	5 mM	372mg	1,6mM	1,6mCi	1,1mM	1,1mCi	55 %.

III - Essai actif

Après l'addition d'eau pour hydrolyser les dérivés silylés, nous avons alcalinisé le milieu réactionnel à pH 8 par addition de soude 1N. Puis, nous avons extrait en continu à l'éther, espérant extraire le composé actif résultant de la condensation, le sel de sodium de l'acide acétamido malonique restant dans la phase aqueuse.

Nous avons constaté que dans ces conditions un tiers de l'activité n'est pas extraite et que le rendement en $\delta \text{AAL}(\overset{14}{\text{C}})$ est bien inférieur à celui des essais traceurs.

57 mCi (0,97 mM) du chlorure d'acide $\underline{\underline{101}}$ obtenu avec un rendement de 76 % par rapport au carbonate de baryum initial (75 mCi - 1,28 mM) sont condensés avec le lithien $\underline{\underline{20}}$ obtenu par action de 5 mM de BuLi sur 2,9 g (10 mM) d'acétamido malonate de TMS $\underline{\underline{19}}$.

On obtient après purification sur résine Dowex 50 (2 passages successifs) 25 mCi (0,425 mM) de $\delta \text{AAL}(\overset{14}{\text{C}}-4)$ contenant encore environ 5 % de glycine inactive.

Cette modification du mode opératoire n'est pas intéressante car elle diminue le rendement en $\delta \text{AAL}(\overset{14}{\text{C}}-4)$.

CHAPITRE XII

EMPLOI DU GROUPEMENT TRIOXA-2,4,10 ADAMANTANE
A LA SYNTHÈSE DE LA γ -BUTYROLACTONE (^{14}C -4), DE
L'HOMOSÉRINE (^{14}C -4) ET DE LA METHIONINE (^{14}C -4)

I - γ -Butyrolactone (^{14}C -4)

L'acide (β -carboxy- ^{14}C -éthyl)-3 trioxa-2,4,10-adamantane 100 obtenu dans le chapitre précédent, nous a paru être une matière première intéressante pour la préparation d'autres produits d'intérêt biologique. La fonction carboxyle ^{14}C peut être réduite par LiAlH_4 en fonction alcool par l'intermédiaire de l'ester méthylique 107 selon le schéma du tableau n° 21, sans réduction du cycle trioxa-2,4,10 adamantane. L'hydrolyse acide de l'alcool 108 donne la γ -butyrolactone (^{14}C -4) 109 avec un rendement global de 60 % par rapport au $^{14}\text{CO}_2$ ayant servi à préparer l'acide 100. Les résultats de quelques essais sont rassemblés dans le tableau page 213. La γ -butyrolactone (^{14}C -4) 109 ouvre l'accès à deux acides aminés importants : D L - homosérine (^{14}C -4) et D L-méthionine (^{14}C -4).

II - D L-Homosérine ($^{14}\text{C}-4$) $\underline{\underline{112}}$

Cet acide aminé marqué en position 4 a été obtenu précédemment par PICHAT, HERBERT et FABIGNON (151) avec un rendement de 30 % par rapport à K^{14}CN . Dans un souci d'amélioration du rendement, nous avons étudié la transformation de la γ -butyrolactone $\underline{\underline{109}}$ en homosérine ($^{14}\text{C}-4$) $\underline{\underline{112}}$. La bromuration de la lactone $\underline{\underline{109}}$ en bromo-2 γ -butyrolactone ($^{14}\text{C} 4$) $\underline{\underline{110}}$ puis son amination fournit $\underline{\underline{111}}$ dont l'ouverture par traitement alcalin conduit à l'homosérine ($^{14}\text{C}-4$) $\underline{\underline{112}}$.

La bromuration de la γ -butyrolactone $\underline{\underline{109}}$ selon M. PLIENINGER (76) est faite sans solvant. En synthèse radioactive, sur quelques millimoles, il est difficile d'isoler la lactone $\underline{\underline{109}}$ relativement volatile, exempte de solvant, sans pertes considérables. La bromuration a donc été essayée en solution dans différents solvants : éther, chloroforme, DME. Les résultats les plus satisfaisants ont été obtenus en solution chloroformique (Rdt : 20 %). La bromuration se fait avec un rendement de 46 %, sans solvant mais avec un appareillage spécial.

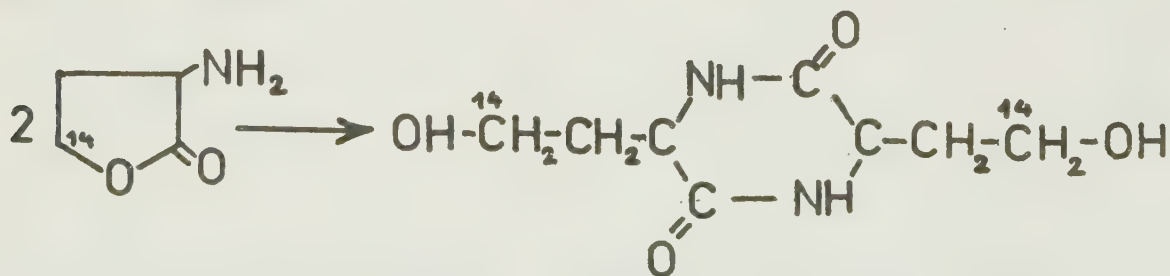
Le passage à l' α -amino γ -butyrolactone $\underline{\underline{111}}$ a été décrit par l'intermédiaire du dérivé α -N-benzoylé (72), du dérivé α -azido (73), du dérivé α -phtalimido (74) et par amination directe par NH_4OH et isolement du bromhydrate (75). C'est cette dernière méthode que nous avons adaptée à la préparation d'homosérine ($^{14}\text{C}-4$) $\underline{\underline{112}}$. Les résultats résumés page 215 montrent qu'il est possible de préparer l'homosérine ($^{14}\text{C}-4$) avec un rendement de 40 % par rapport à la butyrolactone $\underline{\underline{109}}$, soit 24 % par rapport au $^{14}\text{CO}_3\text{Ba}$ initial. La méthode est donc plus avantageuse que celle antérieurement décrite (151).

III - D L-Méthionine (^{14}C -4) 114

Dans la littérature, on trouve un certain nombre de préparations de méthionine ^{35}S (152 - 155), méthionine (^{14}C - ^{35}S) (156), méthionine (méthyl ^{14}C) (157 - 159), méthionine (carboxyle ^{14}C) (162). A notre connaissance la chaîne carbonée n'a pas été marquée au ^{14}C en position autre que le carboxyle, à l'exception d'un marquage des positions 3 - 4 (163). Pourtant, pour certaines recherches en biologie, il est utile de disposer de D L-méthionine (^{14}C -4).

La littérature décrit plusieurs méthodes de transformation de dérivés de l' α -amino γ -butyrolactone 111 en D L-méthionine inactive. HILL et ROBSON (78) ont utilisé l'action du mercaptide de sodium sur l'α-amino butyrolactone tandis que TALBOT, GAUDRY et BERLINGUET employaient l'α-N-phthaloylaminobutyrolactone (74). Nous avons fait quelques essais d'adaptation de cette dernière méthode ; les résultats en sont résumés page 217

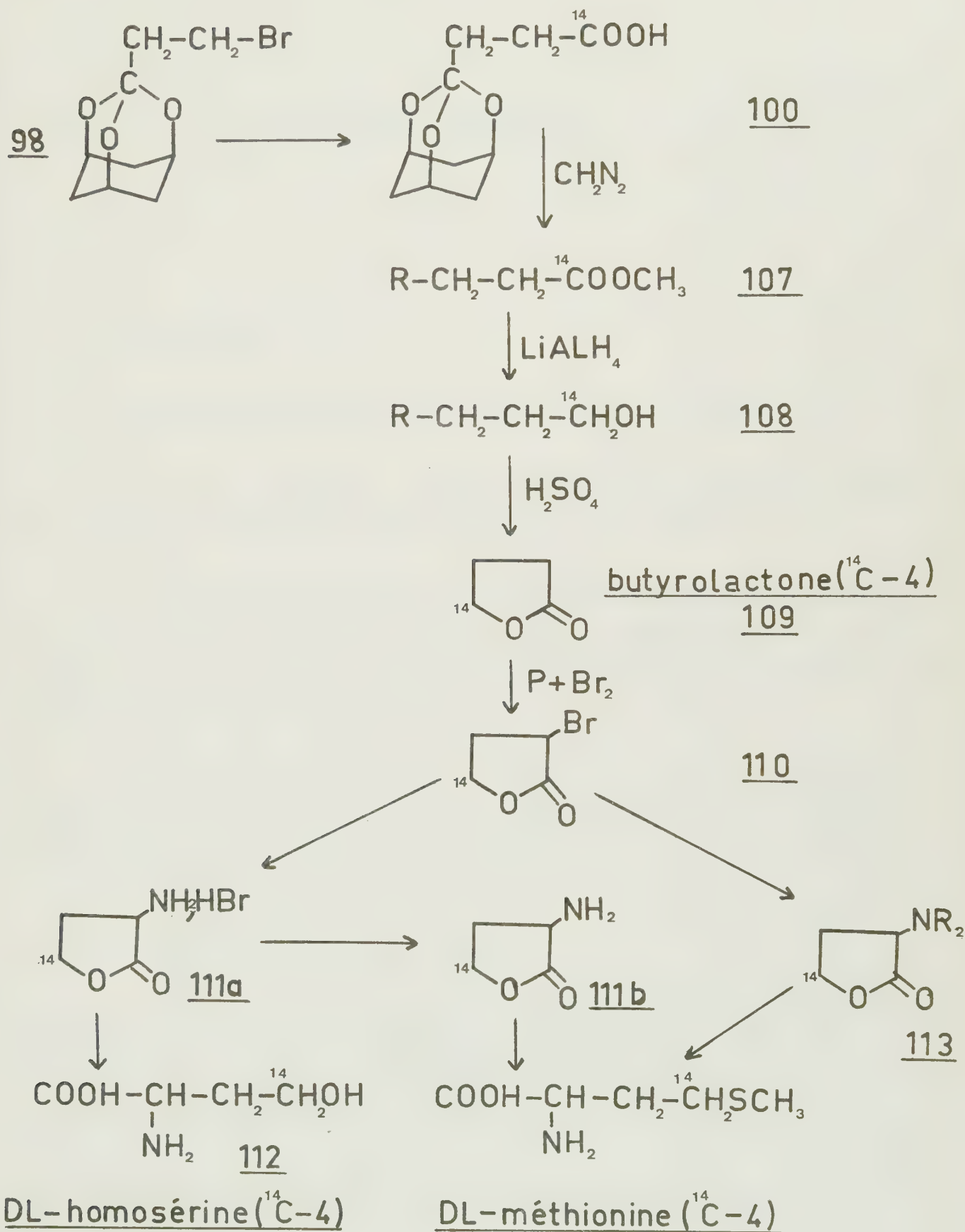
. Le rendement maximum par rapport à la butyrolactone n'est alors que de 10 % . Ce faible rendement est dû sans doute à l'excès de phthalimide de potassium qui ouvre le noyau butyrolactone et entre en compétition avec le méthylmercaptide de sodium. Il semble difficile d'éviter l'emploi d'un excès de phthalimide de potassium. Nous avons alors adopté la méthode de PLIENINGER (76) qui consiste en l'action de CH_3SNa sur l'α - amino butyrolactone 111 libre. En opérant vers -10°C lors de l'action d'une solution chloroformique d'ammoniac sur le bromhydrate de l'α - amino butyrolactone 111, on évite la formation de piperazine (79) selon le schéma :



(Bis hydroxyéthyl-2, 5 dicétopipérazine)

Nos résultats, mentionnés page 217, montrent que l'on peut obtenir la D L-méthionine (^{14}C -4) avec un rendement de 30 % par rapport à la γ -butyrolactone (^{14}C -4), soit un rendement de 18 % par rapport au $^{14}\text{CO}_3\text{Ba}$ initial.

TABLEAU n° 21 Synthèse de γ -butyrolactone ($^{14}\text{C}-4$),
DL-homosérine ($^{14}\text{C}-4$) et DL-méthionine ($^{14}\text{C}-4$)



PARTIE EXPERIMENTALE

I - γ -Butyrolactone (^{14}C -4)

1 - (β -Carboxyméthyl ^{14}C éthyl)-3 trioxa-2,4,10 adamantane 107

L'acide (β -carboxy ^{14}C éthyl)-3 trioxa-2,4,10 adamantane 100 est obtenu (page 188) avec un rendement de 80 % par rapport à $^{14}\text{CO}_3\text{Ba}$.

214 mg (1 mM)-1,3 mCi de l'acide précédent 100 sont dissous dans 10 ml d'éther anhydre et traités à 0°C par 4 mM de diazométhane anhydre en solution étherée. On agite ensuite 30 minutes à température ambiante puis l'essai est porté à sec.

Les chromatographies sur plaque de gel de silice dans le système de solvants : Butanol-Acide acétique-Eau (50 - 25 - 25) montrent une seule tache active de Rf 0,73. Rendement quantitatif.

Spectre RMN (solvant : CCl_4) :

$\delta = 4,48$ ppm (m - 3H - H_{eq}), $\delta = 3,52$ ppm (t - J = 6,75 Hz - 2H - CH_2), $\delta = 2,70$ ppm (m - 5H - $\text{H}_{\text{eq}\beta} + \text{CH}_2$), $\delta = 1,85$ ppm (d. de m. - 3H - H_{ax}), $\delta = 1,48$ ppm (s - 3H - CH_3).

2 - (γ -hydroxy propyl)-3-trioxa-2,4,10 adamantane 108

200 mg (1,3 mCi) (1 mM) de l'ester méthylique 107 précédent sont dissous dans 20 ml d'éther anhydre et ajoutés goutte à goutte à une suspension d'hydrure d'aluminium et de lithium dans 20 ml d'éther anhydre, agitée à température ambiante. On utilise 4 mM de LiAlH_4 , soit 148 mg. On chauffe ensuite une heure à reflux. Après refroidissement, l'excès d'hydrure est détruit prudemment à l'eau et la couche aqueuse est extraite en continu à l'éther. On retrouve 1,1 mCi dans la phase éthérée, ce qui représente un rendement actif de 85 %. Sur les chromatographies (plaques de gel de silice ou d'alumine) dans le système de solvants : Butanol-Acide acétique-Eau (50 - 25 - 25), un seul pic actif est enregistré.

Spectre RMN (solvant : D_2O à 4,75 ppm) :

$\delta = 4,42$ ppm (m - 3H - H_{eq}), $\delta = 3,58$ ppm (m - 2H - CH_2),
 $\delta = 2,52$ ppm (d. de m.- J = 13 Hz - 3H - H_{eq}), $\delta = 1,86$ ppm (d. de m.- J = 13 Hz - 3H - H_{ax}), $\delta = 1,64$ ppm (m - 4H - $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2$).

3 - γ -Butyrolactone (^{14}C -4)

La solution éthérée de l'alcool précédemment obtenu 108 (1,1 mCi - 0,85 mM) est portée à sec. On ajoute 4 ml d'acide sulfurique 2N et on chauffe 1 heure à reflux. Après refroidissement, on extrait par trois fois 10 ml d'éther. On retrouve une activité de 1,0 mCi. Un seul pic actif correspondant à la γ -butyrolactone témoin, est observé sur les enregistrements des chromatographies sur plaques de gel de silice et dans les systèmes de solvants suivants :

- Ether isopropylique - Acétate d'éthyle (8 - 2) $R_f = 0,26$
- Butanol - Acide acétique - Eau (50 - 25 - 25) $R_f = 0,46$

La γ -butyrolactone témoin est révélée par les deux pulvérisations successives suivantes (71) :

- Un volume d'une solution de 7 g de chlorhydrate d'hydroxylamine dans 100 ml de méthanol et un volume d'une solution de 7,2 g de potasse dans 100 ml de méthanol.
- Solution à 2 % de chlorure ferrique dans une solution chlorhydrique aqueuse à 1 %.

Les spectres RMN de la γ -butyrolactone ($^{14}\text{C-4}$) et du témoin sont identiques (solvant : CCl_4) :

$\delta = 4,26$ ppm (t - J = 6,75 Hz - 2H - CH_2), δ entre 2,50 et 2 ppm (m - 4H - CH_2 - 3 et 2).

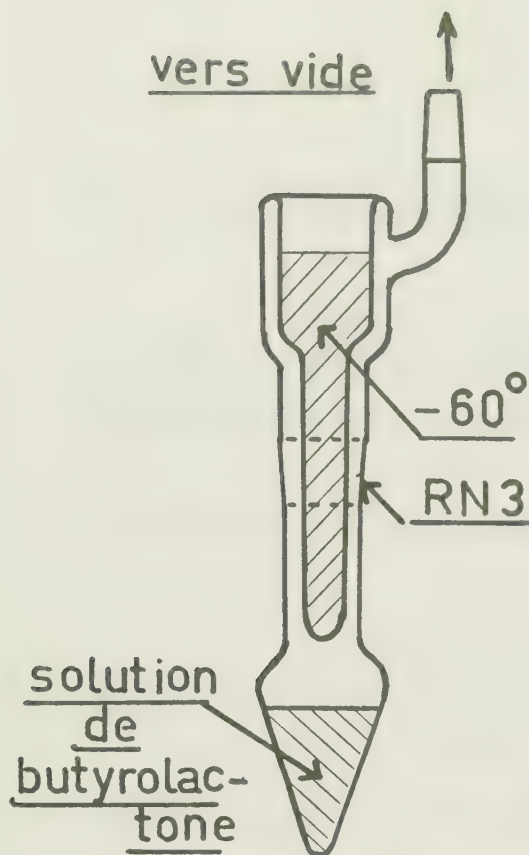
Résultats

	Acide <u>100</u>		Ester <u>107</u>		Alcool <u>108</u>		Butyrolac- tone <u>109</u>		Rendement en <u>109/100</u>
1	2,5 mM	2,5 mCi	2,1 mM	2,1 mCi	1,4 mM	1,4 mCi	1,2 mM	1,2 mCi	50 %.
2	1 mM	2 mCi	1 mM	2 mCi	0,65 mM	1,3 mCi	0,6 mM	1,16 mCi	58 %.
3	1,34 mM	13,5 mCi	1,3 mM	13 mCi	1,1 mM	11 mCi	1 mM	10 mCi	74 %.

II - Homosérine ($^{14}\text{C-4}$)

1 - α -bromo γ -butyrolactone ($^{14}\text{C-4}$) 110

La solution étherée de γ -butyrolactone 109 est placée dans un ballon relié à une rampe à vide et dans lequel plonge un "doigt" refroidi



à -60°C exactement (voir schéma). Le ballon est refroidi à l'azote liquide et placé sous vide secondaire. Le doigt est refroidi à -60°C , puis on abandonne le ballon à la température ambiante. L'éther distille lentement sans être condensé sur le doigt (P.E._{1mm} = -78°C). Les vapeurs de solvant entraînent toujours une fraction de la butyrolactone, qui, dans ces conditions, se condense sur le doigt (P.F. = -48°C). Lorsque tout l'éther est évaporé, on casse le vide à l'azote et on laisse réchauffer l'appareillage. On retrouve ainsi la totalité de 109 (exempte de solvant) au fond du ballon dans

lequel la manipulation est poursuivie. A 1 mM de 109 ainsi obtenue, on ajoute 10 mg de phosphore rouge et 1 mM (0,6 ml) de brome. Après 30 minutes d'agitation à température ambiante, on chauffe à 70°C et à cette température on ajoute à nouveau 1 mM (0,6 ml) de brome. On chauffe 3 heures à 80°C . A cette température, on ajoute 3 ml d'eau et après avoir fait barboter l'azote sec dans la solution, on chauffe 4 heures à reflux. Après refroidissement, on extrait au chlorure de méthylène et on porte à sec sous vide.

Les chromatographies réalisées sur plaque de gel de silice (solvant : Butanol-Acide acétique-Eau : 50 - 25 - 25) montrent trois taches actives dont les pourcentages d'activité et les Rf respectifs sont : 18 % (Rf = 0,90) - 36 % (Rf = 0,75) - 46 % (Rf = 0,60). L' α -bromo γ -butyrolactone a dans ces conditions un Rf de 0,60.

2 - Bromhydrate de l' α -amino γ -butyrolactone, (^{14}C -4) 111a

Le composé 110 obtenu est repris par 4 ml d'ammoniaque concentrée. On agite 24 heures à température ambiante, puis on porte à sec.

3 - Homosérine (^{14}C -4) 112

Le bromhydrate de l' α -amino γ -butyrolactone (^{14}C -4) 111 est repris par 6 ml de NaOH 1N. On chauffe 3 heures à reflux. On obtient ainsi une solution aqueuse du sel de sodium de la D L-homosérine (^{14}C -4). Le pH de la solution doit rester alcalin car, en milieu acide, un équilibre s'établit entre l'homosérine et sa lactone (77). Les enregistrements des chromatographies sur plaques de gel de silice dans les systèmes de solvants :

- t-Butanol-Méthyléthylcétone-Eau-Soude 1N (40 - 30 - 25 - 5)
- s-Butanol-Ethanol-Eau-Soude 1N (60 - 30 - 20 - 10).

sont composés de deux pics actifs dont l'un représente environ 40 % de l'activité et correspond au témoin d'homosérine révélé à la ninhydrine. De plus, une autre valeur du rendement est fournie par le dosage sur l'auto-analyseur d'acides aminés.

Résultats

	Butyrolactone (^{14}C) <u>109</u>			Homosérine (^{14}C) <u>112</u>			Rendement <u>112</u> / <u>109</u>
1	430 mg	5 mM	0 mCi	2,1 mM	250 mg	0 mCi	42 %.
2	430 mg	5 mM	0 mCi	2,2 mM	261 mg	0 mCi	44 %.
3	430 mg	5 mM	0 mCi	2 mM	248 mg	0 mCi	40 %.
4	21 mg	0,25 mM	2,5 mCi	0,1 mM	12 mg	1 mCi	40 %.

III - D L-Méthionine (^{14}C -4) 114

1 - α -N-Phtaloylamino butyrolactone 113a

150 mg (0,95 mM) de α -bromo γ -butyrolactone (^{14}C -4) sont solubilisés dans 3 ml de DME et traités par 0,202 g (1,1 mM) de phtalimide de potassium (15 heures à reflux). Après refroidissement on ajoute de la glace et le mélange réactionnel est filtré sur filtre du type "Millipore". Le précipité actif recueilli contient 113a impur,

Spectre RMN (solvant : acétone deutériée) :

$\delta = 7,78$ ppm (s - 4H - Ph), $\delta = 5,20$ ppm (t - J = 11,25 Hz - 1H - CH), $\delta = 4,50$ ppm (t - J = 8,25 Hz - 2H - CH_2 -4), $\delta = 2,60$ ppm (m - 2H - CH_2 -3).

2 - α -amino γ -butyrolactone 111b (base libre)

La solution aqueuse du bromhydrate 111a est portée à sec sous vide et le résidu est bien séché. Le ballon est refroidi à -10°C et sous courant d'azote sec, on ajoute lentement et en agitant, 5 ml d'une solution chloroformique anhydre saturée d'ammoniac, soit environ 10 mM d'ammoniac pour 1 mM de 111a. Après 15 minutes d'agitation à -5°C , on ajoute 10 ml d'éther anhydre et on filtre rapidement sur filtre du type "Millipore". Puis l'essai est évaporé à sec, le ballon étant toujours refroidi à -5°C . On obtient ainsi 111b qui est aussitôt utilisée pour la suite des opérations.

3 - D L-Méthionine (^{14}C -4) 114

En l'absence d'humidité, l' α -aminobutyrolactone 111b est rapidement reprise par 2 ml de toluène refroidi et traitée par 75 mg (1,1 mM)

de sodium méthylmercaptan. On chauffe 15 minutes à 80°C puis le toluène est distillé et l'essai chauffé une heure à 160°C. Après refroidissement, on ajoute 2 ml d'eau pour obtenir une solution aqueuse de méthionine sur laquelle sont effectués les chromatographies, comptages et dosages par auto-analyseur d'acides aminés.

4 - Résultats

a) Passage par 113a

Butyrolactone <u>109</u>		Phthalimide de K		CH ₃ SNa		Méthionine <u>114</u>		Rdt <u>114/109</u>
430 mg	5 mM	1,1 g	5,5 mM	375 mg	5,5 mM	82 mg	0,55 mM	10 %.
86 mg	1 mM	0,2 g	1,1 mM	75 mg	1,1 mM	17 mg	0,11 mM	10 %.

b) Passage par la base libre 111b

Butyrolactone <u>109</u>			Aminobutyrolactone (bromhydrate) <u>111a</u>			NH ₃ dans CHCl ₃	Méthionine <u>114</u>		Rdt <u>114/111a</u>
			1 mM	182 mg	0 mCi	2 mM	0,1 mM	15 mg	10 %.
			1 mM	182 mg	0 mCi	4 mM	0,18 mM	27 mg	18 %.
			1 mM	182 mg	0 mCi	4 mM	0,18 mM	27 mg	18 %.
			2 mM	364 mg	0 mCi	20 mM	0,64 mM	95 mg	32 %.
21 mg	0,25 mM	2,5 mCi				3 mM	0,075 mM	11 mg	* 30 %.

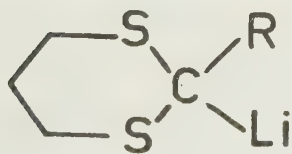
* Rendement par rapport à la butyrolactone (¹⁴C-4) 109

CHAPITRE XIII

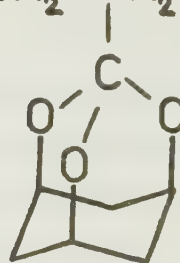
EMPLOI DES GROUPEMENTS TRIOXA-2,4,10 ADAMANTANE ET DITHIANE-1,3 POUR LA SYNTHÈSE DE δ AAL (^{14}C -5)

I - Intérêt des groupes trioxa-2,4,10 adamantane et dithiane-1,3

Selon COREY et SEEBACH (84 - 85), les lithio-2 dithiane-1,3 130 sont des agents d'acylation nucléophiles dont l'utilisation en chimie organique



130

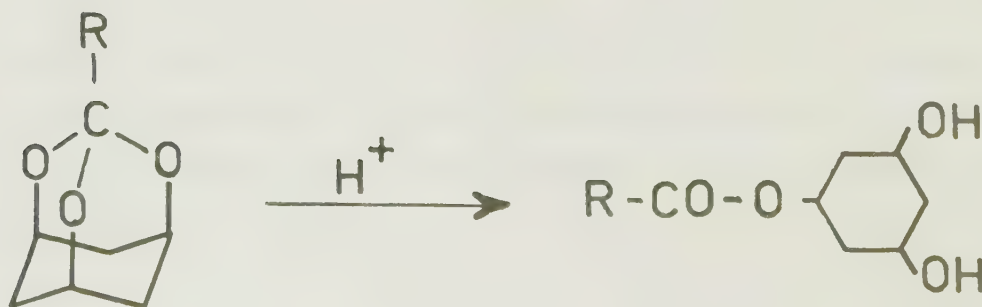


préparative a été passée en revue (83). Le groupe dithiane qui est stable vis-à-vis des hydrures métalliques constitue donc une fonction aldéhyde ou cétone "masquée" dont l'hydrolyse par les sels de mercure, ou l'hydrolyse oxydante libère la fonction carboxyle. De plus, nous avons vu (page 160) que le groupe trioxa-2,4,10 adamantane est une fonction acide

carboxylique "masquée" stable vis-à-vis des organométalliques. La carbonatation avec $^{14}\text{CO}_2$ du lithien 121 doit donc fournir l'acide marqué 122. Le tableau n° 24 montre que la transformation de cette fonction acide en groupe aminométhyl donne le composé 128 dont l'hydrolyse fournit δ AAL (^{14}C -5).

Le composé clé 121 a été élaboré à partir de l'acétal diéthylique de l'aldéhyde β -chloropropionique 115.

Celui-ci est transformé selon (83) en dithiane 117 par action du dimercapto-1, 3 propane. La substitution nucléophile avec KCN sur le dithiane 117 fournit, avec allongement de la chaîne aliphatique de un carbone, le nitrile 118. Celui-ci est transformé en imidate 119 par action de l'éthanol chlorhydrique dans l'éther. L'action de l'éthanol anhydre dans l'éther à reflux transforme 119 en orthoester éthylique 120. Par transestérification avec le cis-phloroglucitol en présence de BF_3 , on aboutit à 121. Des essais préliminaires de métallation de 121 à -25°C pendant 4 heures par le n-BuLi dans le T₂H₂F ont montré, par analyse RMN du produit de deutérololyse, que le lithien se forme avec un rendement de 65 %. Ultérieurement, la lithiation a été effectuée à -45°C pendant 15 heures. Les premiers essais de carbonatation du lithien 122 avec $^{14}\text{CO}_2$ à -25°C pendant une heure ont conduit à un mélange de deux produits, dont l'un est l'acide cherché 123 ; l'autre ne résulte pas de l'ouverture partielle du groupe trioxa-adamantane lors de l'hydrolyse acide selon :



Lorsque la carbonatation est effectuée d'abord à - 80°C puis en laissant revenir à la température ambiante en plusieurs heures, on obtient l'acide 123 avec un rendement de 80-90 % par rapport à $^{14}\text{CO}_2$ (tableau page 234).

II - Essais de synthèse de δ AAL (^{14}C -5)

Deux voies ont été envisagées pour transformer l'acide 123 en δ AAL (^{14}C -5).

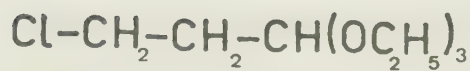
Dans la voie I (tableau n° 23), ^(p222) la fonction carboxyle de 123 est réduite en alcool correspondant 124 par LiAlH_4 avec un rendement de 66 %. La transformation de l'alcool 124 en bromure correspondant par le mélange triphénylphosphine-tétrabromure de carbone ne s'est pas déroulée comme prévu car le produit de réaction a été inactif vis-à-vis du phtalimide de potassium dans le DMF. Il est probable, comme l'ont observé SEEBACH, JONES et COREY (86), que le bromure intermédiairement formé réagit intermoléculairement avec une molécule de dithiane avec S.alcoylation pour former un sel de sulfonium. Bien que la formation du chlorure de sulfonium de dithiane n'ait pas été signalée (86) nous n'avons pas eu plus de succès dans la préparation du chlorure correspondant 125b. (par action de tétrachlorure de carbone et de triphénylphosphine). Un essai de tosylation de l'alcool 124 ayant été également négatif, la voie I a été abandonnée.

III - Synthèse de δ AAL (^{14}C -5)

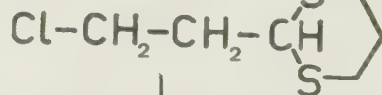
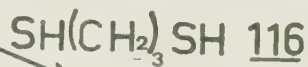
Dans la voie II, ^(p223) l'acide 123 est transformé avec un rendement de 80 % en amide correspondant 127 par l'intermédiaire de l'anhydride mixte 127' non isolé, selon (89). La réduction de l'amide 127 en amine primaire 128 par l'hydrure de bis-méthoxy-2 éthoxy aluminium (RedHal)

TABLEAU n° 22 : Synthèse du

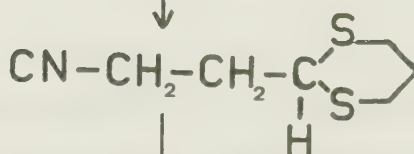
[β (dithian-1,3 carboxyl ^{14}C -2 yl-2)éthyl]-3 trioxa-2,4,10
adamantane



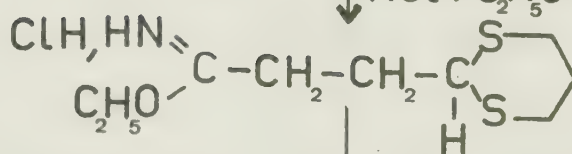
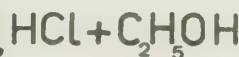
115



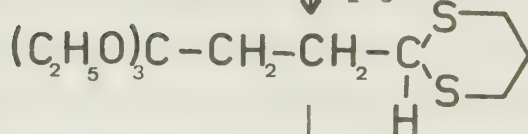
117



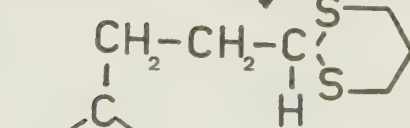
118



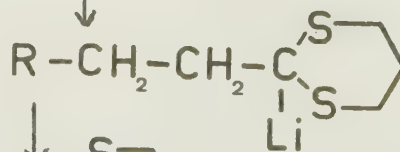
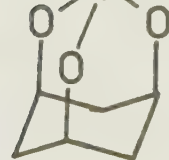
119



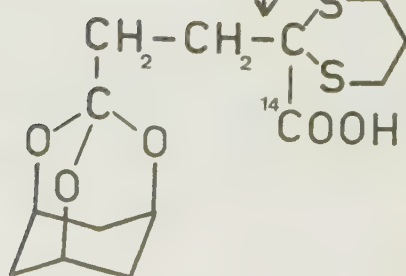
120



121



122



123

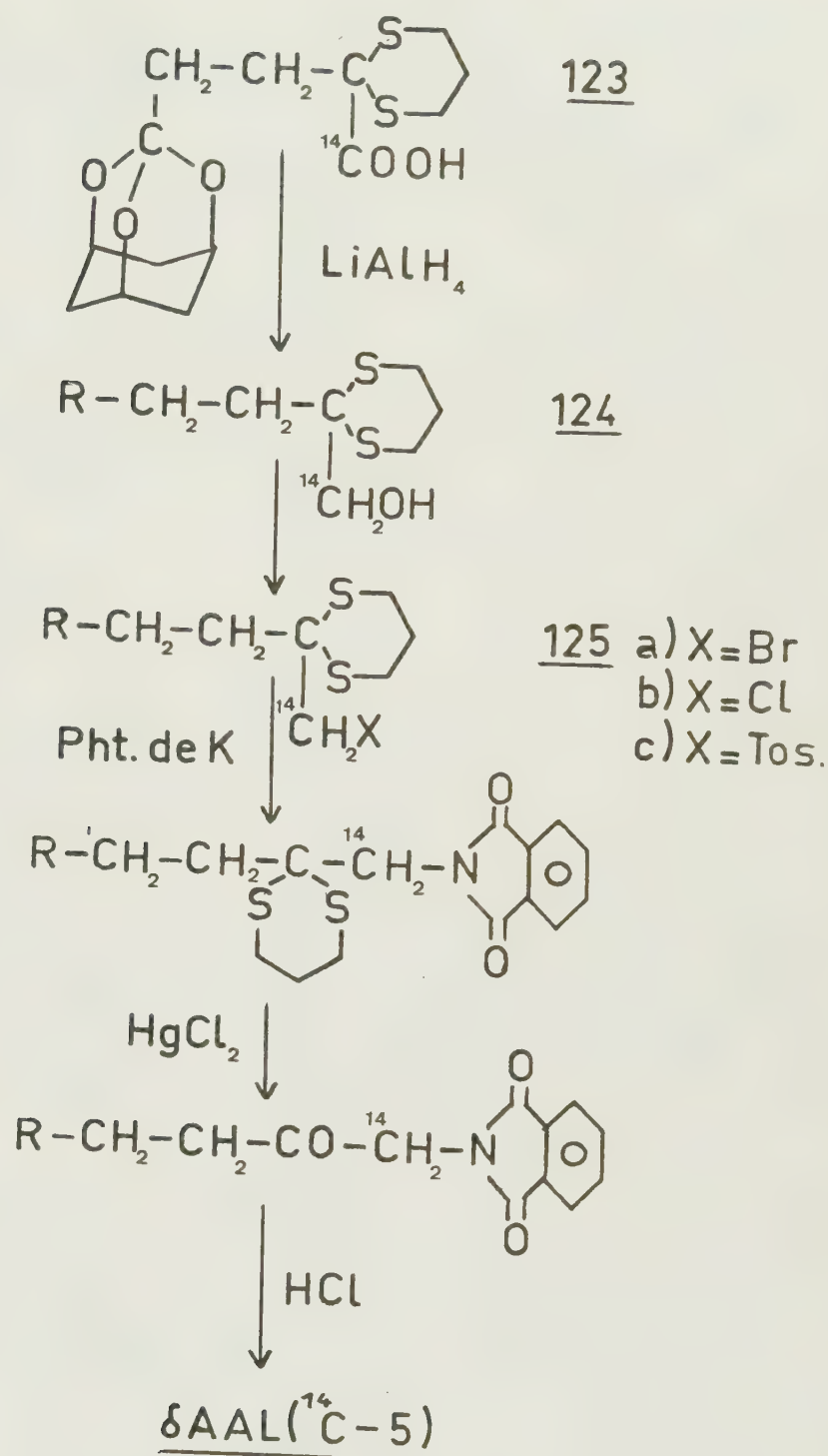
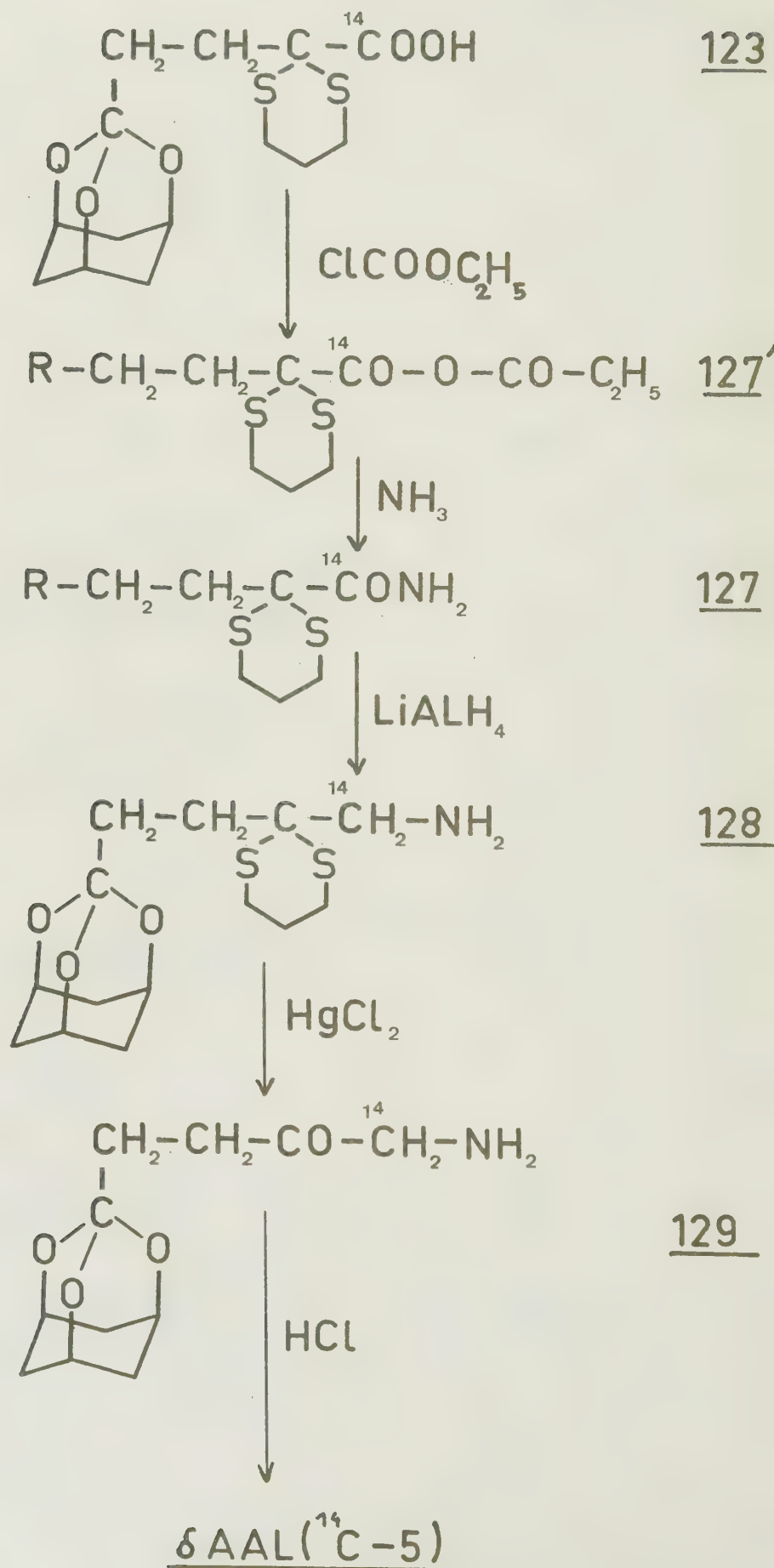
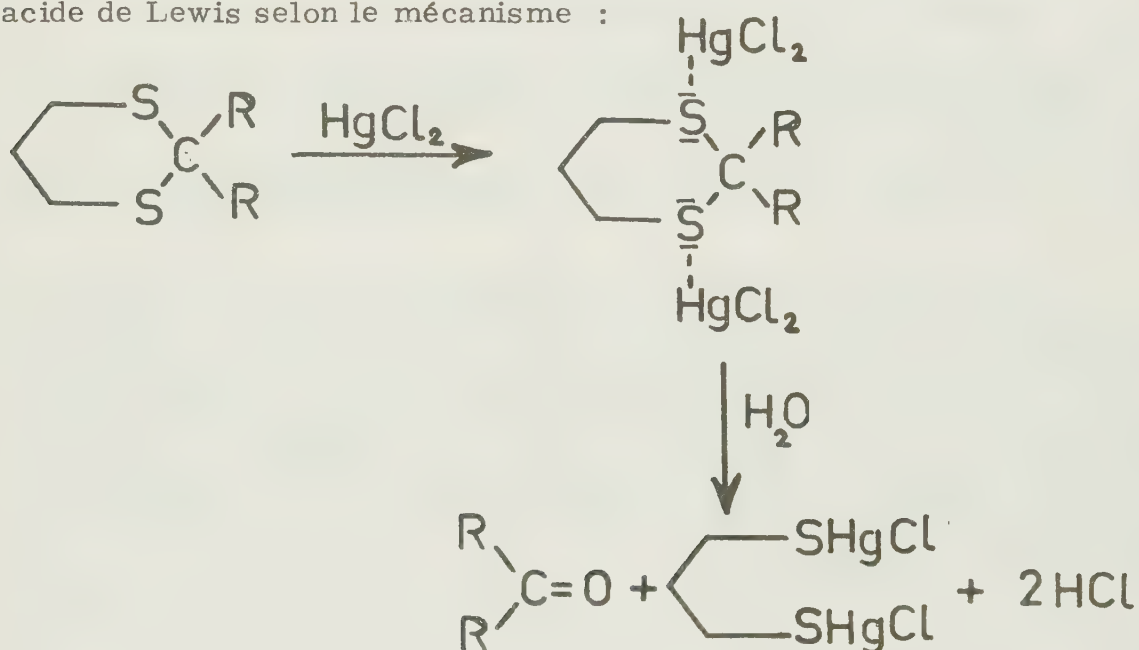
Essais de synthèse de δ AAL(^{14}C -5)

TABLEAU n° 24: Synthèse de δ AAL(^{14} C-5)



n'a pas été satisfaisant. La réduction par LiAlH_4 , par une technique dérivée de celle (91) dans laquelle le produit à réduire, placé dans un Soxhlet, est extrait en continu par l'éther de la solution de LiAlH_4 chauffé à reflux (voir Partie Expérimentale), a donné un rendement de 84 % en produit non purifié.

Pour la régénération de la fonction cétone du composé 129 nous avons utilisé le chlorure mercurique (93 - 96) qui agit comme un acide de Lewis selon le mécanisme :



Le rendement en 129 n'est que de 28 %. Environ 30 % de l'activité initiale se retrouve sous forme de sels de mercure insolubles, comme le signale (97).

Il n'a pas été possible de trouver d'autres méthodes de régénération de la fonction cétone conduisant à de meilleurs résultats car 129 n'est stable qu'en milieu acide comme nous avons pu le constater. Toutes les méthodes de régénération de la fonction cétone à partir du dithiane réalisées en milieu neutre (93 - 95) ou en milieu alcalin (98) ne sont

pas applicables. En particulier, nous avons vérifié qu'en ajoutant de l'oxyde mercurique et en opérant en milieu neutre, les rendements étaient nuls. Quant à la méthode indiquée par VEDEJS et FUCHS (97) et qui utilise l'oxyde mercurique rouge et le trifluorure de bore, elle n'est pas applicable à la régénération de cétones énolisables telles que 129.

IV - Résultats

Des essais traceurs (tableau n° 25) ont donné un rendement global par rapport à $^{14}\text{CO}_3\text{Ba}$ qui est au maximum de 15 %/. L'essai radioactif (page 240) a donné un rendement radioactif global de 10 %/ en $\delta\text{AAL} (^{14}\text{C}-5)$ radiochimiquement pur, d'activité spécifique : 57 mCi/mM.

Les diverses étapes de la synthèse décrite ici sont satisfaisantes à l'exception de celle de la régénération de la fonction cétone de 129. Cette méthode, séduisante dans son principe, ne peut donc pas rivaliser avec celles décrites page 28 et page 127 pour la préparation de $\delta\text{AAL} (^{14}\text{C}-5)$ tant qu'une méthode plus satisfaisante d'hydrolyse du groupe dithiane de 128 n'aura pas été mise au point.

PARTIE EXPERIMENTALE

I - (β (dithian -1,3 yl-2) éthyl)-3 trioxa-2,4,10 adamantane 121

1 - (β -chloroéthyl)-2 dithiane-1,3 117

La solution chloroformique (1 l) de 62,4 g (374 mM) de 115 (EGA Chemie) et de 37,4 ml (370 mM) de propane dithiol-1,3 116 est saturée avec HCl gazeux à la température ambiante. Le mélange réactionnel est abandonné 1 h 30 à température ambiante. Après addition de 400 ml d'eau, agitation et décantation, la couche aqueuse est extraite trois fois au chloroforme. Les couches organiques réunies sont lavées par trois fois 300 ml de KOH 10 % puis trois fois à l'eau. Après évaporation du chloroforme, on distille à 86°C sous vide de pompe à palettes. On obtient 49 g (Rdt = 73 %) de 117. Ses caractéristiques sont en accord avec (83).

- $n_D^{20} = 1,5720$

- Spectre U. V. (dans le méthanol) : deux maxima d'absorption à 248 et 230 m μ .

- Spectre I. R. (cm⁻¹) : dithiane : 910.cm⁻¹

- Spectre de masse : $m = 45$ (11 %) - 73 (11) - 74 (17) - 182 (47) - 184 (20) - dithiane : 119 (100 %).

- Spectre RMN (sans solvant)

$\delta = 4,24$ ppm (t - $J = 6,75$ Hz - 1H - CH), $\delta = 3,72$ ppm (t - $J = 7,85$ Hz - 2H-CH₂-5), $\delta = 2,92$ ppm (m - 4H - CH₂ 4 et 6), δ entre 2,50 et 1,60 ppm (m - 4H - CH₂ CH₂ Cl).

2 - (β -Cyan éthyl)-2 dithiane-1,3 118

On chauffe pendant 5 heures à 140°C le mélange de 70 ml de DMSO fraîchement distillé, de 18,4 g (375 mM) de cyanure de sodium et de 46 g (252 mM) de 117. Après refroidissement, on dilue avec 250 ml d'eau et on extrait par trois fois 40 ml d'éther. Les couches étherées sont lavées par 60 ml de HCl 6N puis deux fois à l'eau. Après évaporation de l'éther, on distille sous vide primaire à 142°C un produit huileux très visqueux qui cristallise rapidement à température ambiante (32,5 g - 188 mM - Rdt = 75 %). P.F. : 41°C.

- Spectre U.V. (dans le méthanol):deux maxima d'absorption à 230 et 248 m μ .

- Spectre I.R. : identique au spectre de 117 avec en plus une bande intense à 2 240 cm⁻¹ (C $\equiv$ N).

- Spectre de masse : $m = 27$ (46 %) - 28 (46) - 29 (58) - 39 (42) - 41 (100) - 42 (24) - 43 (69) - 44 (54) - 45 (31) - 46 (21) - 55 (81) - 56 (27) - 57 (39) - 59 (23) - 60 (23) - 67 (42) - 69 (25) - 74 (52) - 81 (46) - 83 (29)-87 (34) - Dithiane : 119 (79) - Pic de masse : 173 (38).

- Spectre RMN (solvant : CCl₄)

$\delta = 4,12$ ppm (t - $J = 6,75$ Hz - CH), $\delta = 2,90$ ppm (m - 4H - CH₂ 4 et 6), $\delta = 3,60$ ppm (m - 2H - CH₂ 5), $\delta = 2,15$ ppm (m - 4H - CH₂ CH₂ CN).

3 - (Dithian-1,3-yl-2)-3 propionimide d'éthyle 119

32 g (185 mM) de (β -cyanoéthyl)-2 dithiane-1,3 en solution dans 9,4 g (204 mM) d'éthanol anhydre et 100 ml d'éther anhydre sont traités à 0°C par un barbotage d'acide chlorhydrique gazeux anhydre jusqu'à saturation. Le mélange réactionnel est alors abandonné 4 jours à -20°C. Un important précipité apparaît qui est filtré à l'abri de l'humidité et lavé une fois à l'éther anhydre froid avant d'être séché sous vide sur potasse. On obtient 66,5 g (168 mM) du composé attendu 119 (Rdt = 91 %).

- P.F. = 122°C (décomposition)

- Spectre U.V. : (méthanol) deux maxima à 230 et 248 m μ .

- Spectre I.R. : dithiane : 910 cm⁻¹

- Spectre de masse : m/e = 36 (21 %) - 41 (17) - 43 (25) - 45 (15) - 59 (24) - 60 (18) - 84 (32) - 87 (100) - 132 (17) - Dithiane : 119 (21) pic de masse : 219 (41).

- Spectre RMN (solvant : CDCl₃)

δ = 4,72 ppm (qa - J = 6,9 Hz - 2H - O-CH₂), δ = 4,05 ppm (t - J = 6,75 Hz - 1H - CH), δ = 2,90 ppm (m - 6H - CH₂-4, 5 et 6), δ entre 2,50 et 1,80 ppm (m - 4H - CH₂-CH₂-CN), δ = 1,50 ppm (t - J = 6,9 Hz - 3H - CH₃).

4 - (Dithian-1,3-yl-2)-3 orthopropionate d'éthyle 120

30 g (117 mM) du produit précédent 119 sont mis en suspension dans 250 ml d'éthanol anhydre et 250 ml d'éther anhydre. On chauffe à l'abri de l'humidité durant 24 heures à reflux. Après refroidissement à 0°C, le précipité de chlorure d'ammonium formé est filtré. Le filtrat est lavé par 500 ml d'une solution saturée de carbonate de sodium. On relargue la couche aqueuse par addition de carbonate de potassium. La couche organique est séchée sur carbonate de potassium et portée à sec. Il reste 29,1 g (100 mM) de l'orthoester attendu 120 (Rdt = 85 %).

- Spectre U.V. (méthanol) : deux maxima à 230 et 248 mμ .

- Spectre I.R. (cm^{-1})

- dithiane : 910

- $\text{C}(\text{OEt})_3$: 1150, 1180.

- Spectre de masse : m/e = 29 (24 %) - 41 (19) - 45 (23) - 73 (40) - 101 (25) - 116 (43) - 117 (47) - 129 (53) - 132 (48) - 147 (47) - 175 (60) - 249 (100) - Dithiane : 119 (32).

- Spectre RMN (solvant : CCl_4)

δ = 4,40 ppm (t - J = 6,75 Hz - 1H - CH), δ = 3,94 ppm (qa - J = 6,75 Hz - 6H - OCH_2), δ = 3,25 ppm (m - 4H - CH_2 4 et 6), δ = 2,40 ppm (m - 2H - CH_2 5), δ = 2,22 ppm (m - 4H - CH_2CH_2), δ = 1,52 ppm (t - J = 6,75 Hz - 9H - CH_3).

5 - (β (Dithian-1,3-yl-2) éthyl)-3 trioxa-2,4,10 adamantane 121

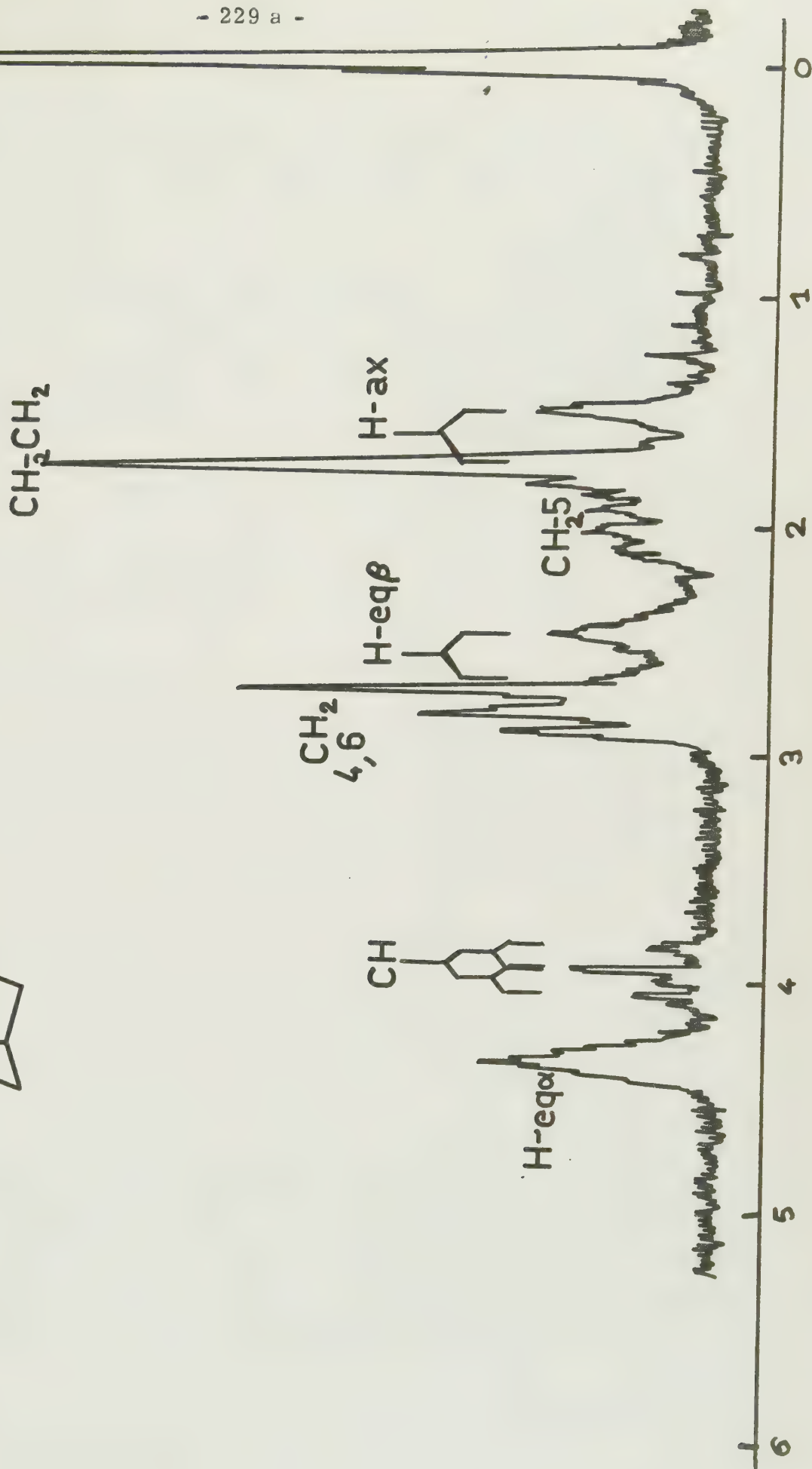
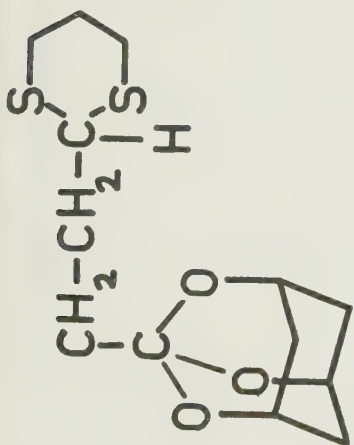
A 27,7 g (94,2 mM) d'orthoester précédent 120 en solution dans 50 ml d'éthanol anhydre, on ajoute 11,88 g (90 mM) de cis-phloroglucitol et quelques gouttes d'éthérate trifluorure de bore. Il y a d'abord solubilisation du cis-phloroglucitol puis apparition d'un nouveau précipité. Après 24 heures d'agitation à température ambiante, ce précipité est filtré et lavé à l'éthanol. Il est ensuite repris par 500 ml d'éther (pour éliminer le cis-phloroglucitol n'ayant pas réagi). On filtre et on porte à sec pour obtenir 16,8 g (59 mM) (Rdt = 65 %) du produit attendu cristallisé blanc.

- Spectre U.V. (méthanol) : deux maxima à 230 et 248 mμ .

- Spectre I.R. :

- dithiane : 900 cm^{-1}

- trioxadamantane : 1330 - 1120 - 1070 - 1020 - 940



- Spectre de masse : $m/e = 41$ (17 %) - 79 (13) - 156 (100) - 157 (10) - 191 (12) - Dithiane : 119 (20) - Pic de masse : 288 (33).

- Spectre RMN (solvant : CCl_4)

$\delta = 4,40$ ppm (m - 3H - H_{eq}) - $\delta = 3,98$ ppm (t - $J = 6$ Hz - 1H - CH),

$\delta = 2,84$ ppm (m - 4H - CH_2 -4 et 6), $\delta = 2,62$ ppm (d. de m. - $J = 13$ Hz -

3H - H_{eq}), $\delta = 2,00$ ppm (m - 2H - CH_2 -5), δ entre 1,90 et 1,40 ppm

(m - 7H - H_{ax} et CH_2 - CH_2).

II - (β (dithian-1,3 carboxyl ^{14}C -2,yl-2) éthyl)-3 trioxa-2,4,10 adamantane

1 - Essais de lithiation de $\underline{\underline{120}}$; carbonatation du lithien

a) Deutérolyse

864 mg (3 mM) de $\underline{\underline{120}}$ en solution dans 20 ml de THF anhydre, sont lithiés à -25°C durant 4 heures, par 2 mM de butyllithium. On deutérolyse $\underline{\underline{122}}$ ainsi formé et l'étude RMN du produit partiellement deutérié montre que dans ces conditions, le rendement de lithiation est de 65 %.

b) Carbonatation

Le lithien $\underline{\underline{122}}$ est traité par 1 mM de $^{14}\text{CO}_2$ à faible activité spécifique, durant une heure, à -25°C . Après hydrolyse par 10 ml d'eau, on porte à sec, on reprend à l'eau et on extrait en continu à l'éther. Ensuite, on acidifie prudemment par HCl 1N à pH 4 et on extrait en continu à l'éther. Toute l'activité est retrouvée dans cette solution éthérée. On l'analyse par chromatographie sur plaque de gel de silice dans le solvant chloroforme-éthanol (5 - 1). L'étude de ces chromatogrammes montre deux pics actifs ($R_f = 0,5$ et $0,25$) d'égale intensité, tous deux visibles en U.V. et révélés à chaud par le permanganate de potassium.

Plusieurs modifications du mode opératoire ont été essayées afin d'obtenir un seul pic actif.

- Neutralisation exacte à pH 7 par HCl 1N puis extraction à l'éther :
dans ce cas, l'activité n'est pas extraite à l'éther. Il faut être à $\text{pH} < 4$ pour pouvoir récupérer l'activité.

- Poursuite des manipulations sans hydrolyse du sel de lithium de l'acide attendu 123 .

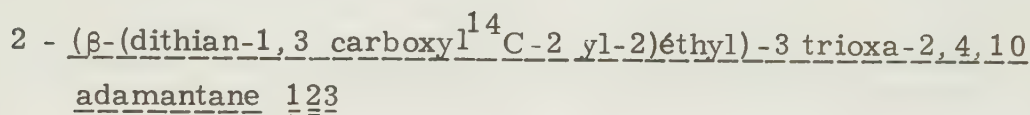
En fin de carbonatation, l'essai n'est pas hydrolysé et on ajoute 76 mg (2 mM) d'hydrure d'aluminium et de lithium en solution dans le THF. On chauffe 1 heure à reflux puis l'excès d'hydrure est prudemment détruit à l'eau et la couche aqueuse est extraite à l'éther. On analyse des chromatographies sur plaque de gel de silice dans les solvants : Chloroforme-Ethanol (5 - 1) et Chlorure de méthylène à 5 % de méthanol. On observe toujours deux pics actifs d'égale intensité.

- Acidification par résine Dowex 50 W X 12 (forme H^+)

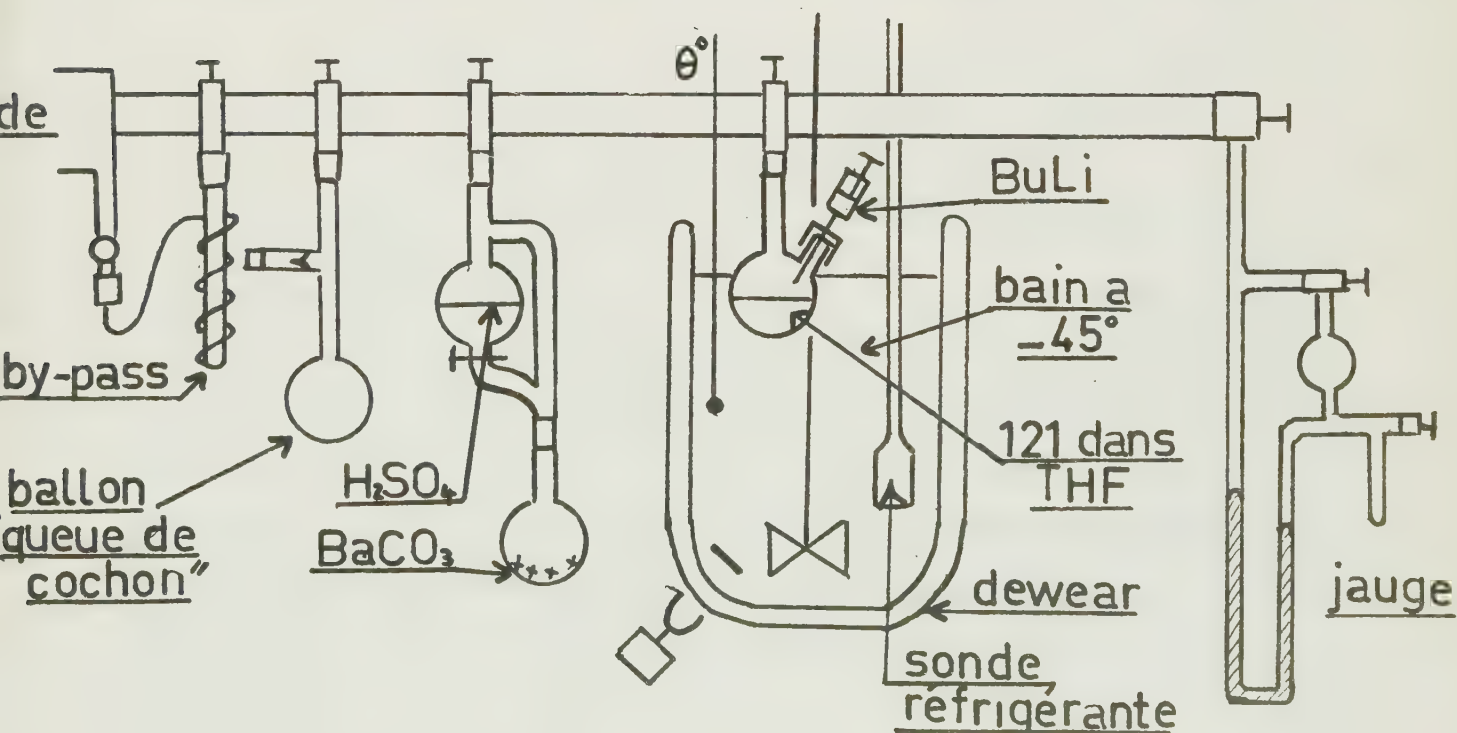
On acidifie ainsi à pH 4, la réaction étant suivie par pH mètre. Après extraction à l'éther, on est toujours en présence de deux pics actifs d'égale intensité sur les chromatogrammes.

Puisque la réduction du mélange réactionnel sans hydrolyse préalable conduit toujours à l'obtention de deux pics actifs, nous avons pensé qu'il ne s'agissait pas d'une ouverture du groupement trioxa-adamantane en milieu acide. Effectivement une chromatographie du mélange réactionnel après l'hydrolyse par 10 ml d'eau, donc une chromatographie du sel de lithium de l'acide attendu 123, réalisée sur plaque de gel de silice

dans le solvant : Butanol saturé d'eau, montre aussi deux pics actifs d'égale intensité ($R_f = 0,65$ et $R_f = 0,35$), révélés en U.V. et par le permanganate à chaud. Or la lithiation par le butyllithium conduit à un seul produit de réaction, comme le montre le spectre RMN réalisé lors de la deutérololyse du lithien. C'est donc lors de la carbonatation que deux produits actifs apparaissent. Nous avons pensé que l'acide qui nous intéressait se formait peut-être à une température plus basse que l'impureté active. Aussi nous avons réalisé la carbonatation de l'organolithien $\underline{\underline{122}}$ (formé par action du butyllithium durant 15 heures à -45°C), à -80°C durant une heure, la température mettant ensuite plusieurs heures pour revenir à 25°C . Dans ces conditions, un seul produit actif correspondant à l'acide attendu est bien obtenu avec un rendement de 80% environ par rapport au carbonate de baryum ^{14}C . Le mode opératoire finalement retenu est donc le suivant :



- Appareillage



3,2 g (11 mM) de 121 en solution dans 50 ml de THF anhydre sont refroidis à - 45°C sous atmosphère d'azote. On ajoute à la seringue 5 mM de butyllithium (dans l'hexane) et on agite durant 15 heures à - 45°C. Le ballon réactionnel est ensuite refroidi à - 80°C et l'appareillage est mis sous vide secondaire. Le carbonate de baryum ^{14}C traité par l'acide sulfurique libère le $^{14}\text{CO}_2$, qui est jaugé, puis envoyé dans le ballon réactionnel refroidi à - 80°C. On agite une heure à cette température. Si une partie du $^{14}\text{CO}_2$ n'est pas consommée, il est alors piégé dans le by-pass pour être par la suite récupéré dans un ballon à "queue de cochon". Le ballon réactionnel est isolé du reste de l'appareillage et on laisse le bain réfrigérant se réchauffer. Après 24 heures, sa température est de - 20°C. Le mélange réactionnel est alors hydrolysé par 10 ml d'eau et le THF est chassé sous vide. La solution aqueuse restante est extraite en continu à l'éther, puis acidifiée prudemment par l'acide chlorhydrique normal et à nouveau extraite à l'éther. On retrouve environ 85 % de l'activité initiale dans la couche étherée correspondant à un seul produit actif : l'acide 123 cherché.

- Spectre U.V. (solvant : méthanol) : maximum à 230 mμ.

- Spectre I.R. (cm^{-1})

- dithiane : 920

- trioxa adamantane : 1300, 1130, 1080, 950

- COOH : 1690

- Spectre de masse : m/e : 27 (10 %) - 28 (25) - 29 (13) - 32 (22) - 39 (13) - 41 (45) - 43 (12) - 44 (19) - 45 (24) - 55 (11) - 67 (12) - 73 (10) - 79 (19) - 132 (18) - 156 (100) - 157 (11) - 191 (12) - 288 (45) - Dithiane : 119 (26).

- Spectre RMN (solvant : CDCl_3)

$\delta = 5,05 \text{ ppm}$ (m - 3H $\text{H}_{\text{eq}\alpha}$, $\delta = 4,00 \text{ ppm}$ (m - 2H - CH_2 -5),

δ entre 3,70 et 3,00 ppm (m - 7H - H_{eq} et CH_2 -4 et 6), δ = 2,75 ppm (m - 4H - CH_2 - CH_2), δ = 2,45 ppm (s - 1H - COOH), δ = 2,35 ppm (d. de m. - J = 13 Hz - 3H - H_{ex}).

Les résultats des essais traceurs réalisés selon le mode opératoire finalement retenu sont donnés dans le tableau suivant :

	RH <u>121</u>		BuLi	$^{14}CO_2$		R $^{14}COOH$ <u>123</u>			Rdt/ CO_2
1	1,44g	5 mM	2 mM	1 mM	1 mCi	266 mg	0,8 mM	0,8 mCi	80 %.
2	6,2 g	21 mM	15 mM	8 mM	8 mCi	2,4 g	6,4 mM	6,4 mCi	80 %.
3	1,49 g	5 mM	2 mM	1 mM	0,9 mCi	259 mg	0,78 mM	0,7 mCi	78 %.
4	2,8 g	10 mM	4 mM	2 mM	2 mCi	597 mg	1,8 mM	1,8 mCi	90 %.
5	3,2 g	11 mM	5 mM	3 mM	3 mCi	875 mg	2,64 mM	2,64 mCi	88 %.

III - δ AAL (^{14}C -5) : Voie I

1 - $\left[\beta - (\text{dithian-1,3 hydroxyméthyl-2 yl-2})\text{éthyl} \right] - 3 \text{ trioxa-2,4,10}$ adamantane 124

266 mg (0,8 mM) (0,8 mCi) d'acide 123 en solution dans 30 ml d'éther anhydre sont ajoutés à une suspension de 76 mg (2 mM) de $LiAlH_4$ dans 10 ml d'éther anhydre. On chauffe 3 heures à reflux et après refroidissement, on détruit prudemment l'excès d'hydrure par l'eau. La couche aqueuse est extraite en continu à l'éther. On retrouve 0,53 mCi soit 66 % de l'activité. Un seul produit actif est obtenu, comme le montrent les

chromatogrammes sur plaque de gel de silice dans les solvants: Chloroforme-Ethanol (9 - 1) et chlorure de méthylène à 5 % de méthanol. Les Rf du produit actif obtenu 124 dans ces deux systèmes de solvants sont respectivement de 0,65 et de 0,73, ceux de 123 étant de 0,53 et de 0,21.

Le produit obtenu 124 est visible en U.V. et révélé par le permanganate de potassium à chaud.

Dans un des essais, l'alcool 124 a été purifié par chromatographie d'absorption sur une colonne de gel de silice, avec élution par l'acétate d'éthyle. Le produit cristallisé blanc purifié 124 a le spectre RMN suivant :

- Spectre RMN (solvant : acétone D₆)

$\delta = 4,44$ ppm (m - 3H - H_{eq}), $\delta = 3,78$ ppm (s - 2H - CH₂OH), $\delta = 3,05$ ppm (m - 2H - CH₂5), δ entre 2,92 et 2,60 ppm (m - 5H - CH₂ 4' et 6 + OH), $\delta = 2,45$ ppm (d. de m.- J = 13 Hz - 3H - H_{eq}), δ entre 2,00 et 1,60 ppm (m - 7H - H_{ax} et CH₂ CH₂).

2 - Essais de préparation du (β -(dithian-1,3 bromométhyl-2 yl-2) éthyl)-3 trioxa-2,4,10 adamantane 125a

0,53 mM (160 mg) d'alcool précédent 124 sont traités par 438 mg (1,32 mM) de tétrabromure de carbone et 346 mg (1,32 mM) de triphényl phosphine (66). Le mélange est agité dans l'éther anhydre durant 6 heures à température ambiante. Après filtration, on constate par des chromatographies sur plaques de gel de silice (solvant : Benzène-Acétate d'éthyle (60 - 40)) qu'on ne retrouve plus le pic correspondant à l'alcool (Rf = 0,25) et qu'un pic actif principal apparaît (Rf = 0,51).

L'essai est porté à sec puis est repris par 20 ml de DMF fraîchement distillée. On ajoute 80 mg (0,55 mM) de phtalimide de potassium et on

chauffe deux heures à 90°C. Les chromatographies sur gel de silice dans le même solvant, montrent qu'aucune réaction n'a eu lieu.

3 - Essais de préparation du (β -(dithian-1,3 chlorométhyl-2 yl-2) éthyl) -3 trioxa-2,4,10 adamantane 125b

Nous avons opéré comme pour 125a et de la même façon, aucune réaction n'a eu lieu avec le phtalimide de potassium.

4 - Essais de tosylation de l'alcool 124 selon (86)

143 mg (0,45 mM) d'alcool 124 sont traités dans 3 ml de pyridine anhydre par 1 g de chlorure de tosyloxy durant 15 heures à l'abri de l'humidité et de la lumière. Après lavage par une solution saturée de carbonate de sodium, on extrait à l'éther. Toute l'activité se retrouve dans cette couche étherée et l'enregistrement des chromatographies sur plaques de gel de silice dans le solvant : Cyclohexane-Acétate d'éthyle (70 - 30) montrent un seul pic actif, de $R_f = 0,35$ (R_f de l'alcool = 0,10).

La réaction d'échange entre le produit obtenu et 96 mg (0,5 mM) de phtalimide de potassium (87 et 88) a été tentée :

- dans la DMF anhydre (15 heures à 90°C)
- dans le xylène anhydre (4 heures à 140°C)
- dans le xylène contenant 5 % d'eau (15 heures à 100°C).

Dans tous les cas, aucune réaction n'a eu lieu.

IV - δ AAL (^{14}C -5) : Voie II

1 - (β -(dithian-1,3 carboxamido ^{14}C -2 yl-2)éthyl)-3 trioxa-2,4,10
adamantane 127

Selon (89) une solution de 286 mg (0,86 mM) (0,86 mCi) d'acide 123 et 101 mg (1 mM) de triéthylamine, dans 2 ml de chloroforme anhydre, est ajoutée goutte à goutte à une solution de 108,5 mg (1 mM) de chloroformiate d'éthyle dans 2 ml de chloroforme anhydre refroidie à - 30°C. On agite et on laisse remonter la température en 1 heure à 5°C. A cette température, on y fait barboter l'ammoniac anhydre. Un important précipité blanc se forme. Après fin de barbotage, le mélange est agité une heure à température ambiante puis filtré et lavé trois fois au chloroforme. Les couches organiques réunies sont lavées deux fois par une solution froide de soude à 5 % . On retrouve 0,69 mCi, soit 60 % de l'activité, sous forme d'un seul pic actif dans les chromatographies sur plaque de gel de silice dans le solvant : Chloroforme saturé d'ammoniaque + 2 % d'éthanol. Le produit actif 127 a un Rf de 0,40 (Rf de l'acide nul) ; il est visible en U.V. et révélé par le permanganate à chaud.

2 - (β -(dithian-1,3 aminométhyl ^{14}C -2 yl-2) éthyl)-3 trioxa-2,4,10
adamantane

a) Réduction de 127 par le "Red Hal" (Aldrich)

126 mg (0,38 mM - 0,38 mCi) d'amide 127 en solution dans 10 ml de benzène anhydre, sont ajoutés goutte à goutte à 307 mg (1,5 mM) de "Red Hal" chauffés à 80°C en solution benzénique à 70 % . L'essai est chauffé 15 heures à 80°C puis après refroidissement, hydrolysé par l'eau. On ajoute 5 ml de potasse à 50 % . La couche aqueuse est lavée deux fois au benzène. Les couches benzéniques réunies contiennent 80 % de l'activité. Les enre-

gistréments des chromatographies sur plaque de gel de silice dans le solvant : Chloroforme saturé d'ammoniaque + 2 % d'éthanol, montrent deux pics actifs d'égale intensité.

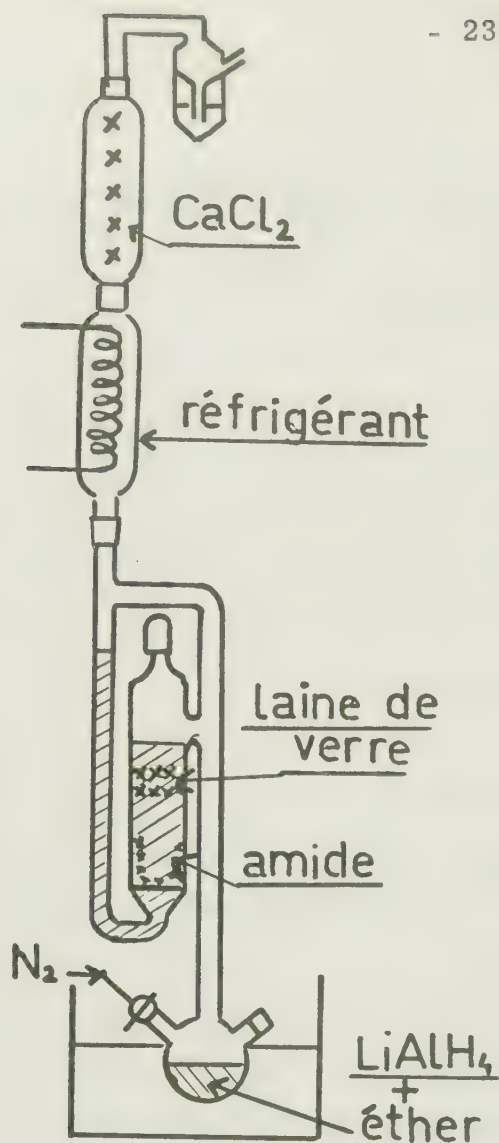
Tous les essais pour lesquels on a utilisé le "Red Hal" n'ont jamais abouti à l'obtention de δ A A L($^{14}\text{C}-5$). Il faut donc admettre que les produits de réduction obtenus avec le "Red Hal" ne comportent pas l'amine attendue 128 mais peut-être l'alcool ou l'aldéhyde correspondant.

b) Réduction de 127 par LiAlH_4 (91)

Pour réduire un amide primaire en amine primaire, il faut utiliser un excès d'environ 200 % de LiAlH_4 et il est nécessaire d'ajouter l'amide à la solution d'hydrure, pour éviter une réduction de l'amide en aldéhyde ou en alcool (91).

Dans notre cas, l'amide précédemment obtenu 127 est très peu soluble dans l'éther. Il est donc difficile de l'ajouter à une solution d'hydrure selon les moyens classiques, avec une ampoule à brome par exemple, et ceci d'autant plus qu'il s'agit d'un produit actif. Aussi avons nous utilisé le mode opératoire suivant (91):

228 mg - 0,69 mM (0,69 mCi) d'amide 127 en solution dans 10 ml de chloroforme sont introduits dans l'extracteur liquide-liquide représenté sur le schéma ci-après. Le chloroforme est évaporé par un courant d'azote sec. Tout l'appareillage est ensuite purgé à l'azote et l'extracteur est rempli d'éther anhydre. Dans le ballon inférieur sont placés 81 mg (2,1 mM) d'hydrure d'aluminium et de lithium dans 50 ml d'éther anhydre. On chauffe ensuite ce ballon. L'éther extrait en continu l'amide



127 placé dans l'extracteur, qui est réduit au fur et à mesure qu'il entre au contact de l'hydrure. La réduction ainsi réalisée est poursuivie durant 48 heures. Après refroidissement, l'excès d'hydrure est détruit prudemment à l'eau, puis on ajoute 100 ml d'eau et la couche aqueuse est extraite durant 48 heures en continu à l'éther. On retrouve 84 % de l'activité et l'enregistrement des chromatographies sur plaque de gel de silice dans le solvant : Chloroforme saturé d'ammoniaque + 2 % d'éthanol, montre un seul pic actif ($R_f = 0,72$). Ce pic est révélé en violet par la ninhydrine, ce qui prouve qu'on a bien obtenu l'amine attendue 128.

3 - (Amino-4 céto-3 (^{14}C) butyl)-3 trioxa-2,4,10 adamantane 129

184 mg (0,58 mM - 0,58 mCi) d'amine 128 sont repris par 10 ml de méthanol à 10 % d'eau. On acidifie par l'acide chlorhydrique normal jusqu'à pH 4 et on ajoute 326 mg (1,2 mM) de chlorure mercurique puis on chauffe 6 heures à reflux. Après refroidissement, le précipité qui s'est formé est filtré et lavé plusieurs fois à l'éther. Dans le filtrat, on retrouve 70 % de l'activité mise en jeu. Les enregistrements chromatographiques

sur plaque de gel de silice dans le solvant : Butanol-Acide acétique-Eau (50 - 25 - 25), montrent deux pics actifs :

- un pic de $R_f = 0,37$ (60 % de l'activité) révélé en violet à la ninhydrine
- un pic de $R_f = 0,05$ (40 % de l'activité) révélé en jaune à la ninhydrine

L'amine attendue étant une amine α -cétonique doit être révélée en jaune à la ninhydrine et correspond donc au deuxième pic actif ($R_f = 0,05$). Quant au précipité, il contient 30 % de l'activité initiale.



L'amine précédente 129 est portée à sec et hydrolysée durant 15 heures à 100°C par le mélange:Acide chlorhydrique-Acide acétique (50 - 50). Après refroidissement, l'essai est évaporé, repris à l'eau et filtré. On obtient une solution aqueuse active dont 40 % de l'activité correspond au $\delta \text{ AAL } (^{14}\text{C}-5)$ comme le montre l'enregistrement des chromatographies sur papier What man n° 1 dans le solvant : Butanol-Acide acétique-Eau (50 - 25 - 25).

V - Essais traceurs

Les résultats de ces essais sont résumés dans le tableau n° 25 p 241

VI - Essai actif

Il a été réalisé sur 689 mg (3,5 mM) de carbonate de baryum (^{14}C) à 57 mCi/mM, soit 200 mCi.

Les résultats pour les différentes étapes sont les suivants :

TABLEAU n° 25
Résultats des essais traceurs de synthèse de δ AAL (^{14}C -5)

Essai	$^{14}\text{CO}_2$		$^{14}\text{RCOOH } 123$			$^{14}\text{RCONH}_2 127$			$^{14}\text{RCH}_2\text{NH}_2 128$			δ AAL (^{14}C -5)			Rdt global / CO_2	Remarques
	mM	mCi	mM	mCi	Rdt	mM	mCi	Rdt	mM	mCi	Rdt	mM	mCi	Rdt		
1	1	1	0,8	0,8	80°/.	0,69	0,69	84°/.	0,55	0,55	80°/.	0	0	0°/.	0°/.	régénération de la fonction cétone par HgCl_2/HgO
2	8	8	6,4	6,4	80°/.	0,51	0,51	80°/.	0,31	0,31	60°/.	0,08	0,08	25°/.	10°/.	réduction par LiAlH_4
3	1	0,9	0,78	0,7	78°/.	0,62	0,56	80°/.	0	0	0°/.	0	0	0°/.	0°/.	réduction par le "Red Hal"
4	2	2	1,8	1,8	90°/.	1,44	1,44	80°/.	1,15	1,15	80°/.	0,29	0,29	25°/.	15°/.	réduction par LiAlH_4 -utilisation de HgCl_2
5	3	3	2,6	2,6	88°/.	2,1	2,1	80°/.	1,66	1,66	80°/.	0,46	0,46	28°/.	16°/.	réduction par LiAlH_4 -utilisation de HgCl_2

	mM	mCi	Rendement de l'étape	Rendement global/CO ₂
Acide <u>123</u>	2,86 mM	163 mCi	88 %	88 %
Amide <u>127</u>	2,22 mM	127 mCi	78 %	69 %
Amine <u>128</u>	1,88 mM	107 mCi	84 %	58 %
Amine α-cétonique <u>129</u>	0,51 mM	29 mCi	27 %	15 %
δ A A L (¹⁴ C-5)	0,35 mM	20 mCi	70 %	10 %

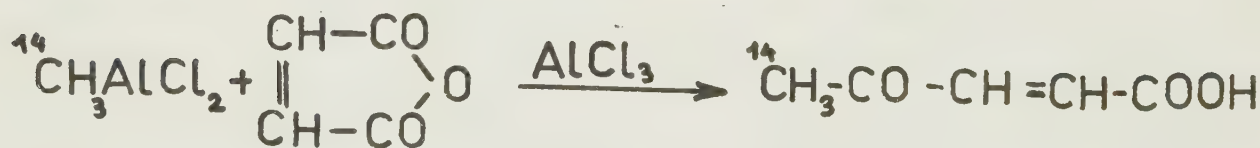
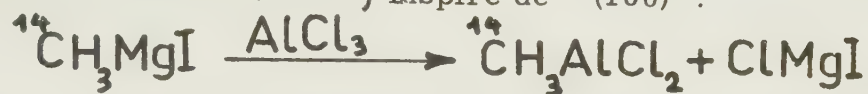
Après la purification habituelle de δ A A L (¹⁴C-5) (page 21)
et les contrôles usuels, nous obtenons 15 mCi (0,26 mM) de δ A A L (¹⁴C-5)
à 57 mCi/mM, chimiquement et radiochimiquement pur.

CHAPITRE XIV

AUTRES ESSAIS DE SYNTHÈSE DE δ AAL (^{14}C)

I - Essai d'utilisation de l'acide β -acétylacrylique (^{14}C -5)

Nous pensions pouvoir obtenir l'acide β -acétylacrylique (^{14}C -5) selon le schéma suivant, inspiré de (106) :

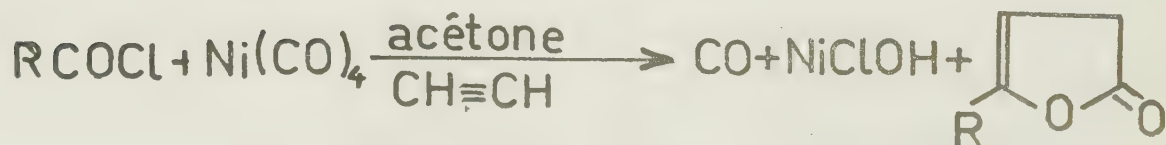


On aurait ensuite synthétisé l'ester méthylique de l'acide puis brome en position 5 pour obtenir, par condensation sur le phtalimide de potassium, le δ -phtalimido déhydro lévulinate de méthyle, précurseur de δ AAL (^{14}C) ou (^3H) déjà connu (107). Nous avons réalisé nos expériences à partir d'acide cis- β -acétylacrylique inactif. L'ester méthylique a été obtenu sans difficulté par action du diazométhane. Nous avons essayé d'obtenir le bromo-5- β -acétylacrylate de méthyle par action du N-bromo succinimide (avec ou sans peroxyde de benzoyle) ou par action du trihydro

bromure de pyrrolidone (108 et 109). De très nombreux produits se forment durant ces réactions. Par action du phtalimide de potassium sur ces produits, il n'a jamais été possible d'obtenir du δ -phtalimido déhydro lévulinate de méthyle. Les mêmes résultats négatifs ont été obtenus en essayant de bromer directement l'acide β - acétylacrylique .

II - Synthèse de δ A A L (^{14}C 4) utilisant le nickel carbonyle

Selon les références (110) à (114) le mélange d'un chlorure d'acide, de nickel carbonyle et d'acétone dans lequel on fait barboter de l'acétylène, conduit à une lactone selon le schéma :



En utilisant le chlorure de phtalylglycine, selon ce schéma on devrait obtenir la phtalimido-5 méthyl -4, 5 déhydro-8 butyrolactone qui, par hydrolyse devrait conduire à δ A A L . Différents essais ont été réalisés en inactif. Nous avons obtenu un rendement maximum de 1 % de δ A A L.

CONCLUSIONS

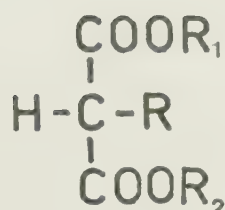
Dans le présent travail, nous avons mis au point de nouvelles méthodes de synthèse de l'acide δ -aminolévulique (δ -AAL) particulièrement adaptées à l'obtention du produit marqué par le carbone 14 en positions 4 ou 5. Les méthodes conçues ont permis en outre l'obtention de quelques intermédiaires nécessaires pour la préparation de composés d'intérêt biologique :

acide lévulique - (^{14}C -4)
noradrénaline - (^{14}C -7)
adrénaline - (^{14}C -7)
histidine - (^{14}C -4)
 Δ^8 -tétrahydrocannabinol
homosérine - (^{14}C -4)
méthionine - (^{14}C -4).

Les méthodes mises au point utilisent :

A - Des esters triméthylsilyliques (TMS) de composés maloniques

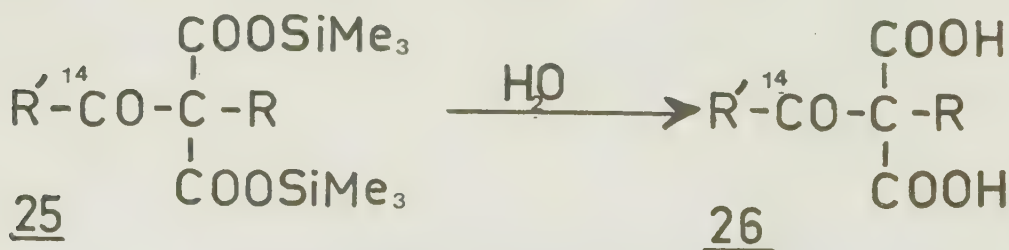
Les esters TMS de composés maloniques (1 - 7) ont été facilement obtenus avec d'excellents rendements par traitement des acides correspondants avec le bis (triméthylsilyl) acétamide (BSA) :



- | | |
|--|--|
| (<u>1</u>) R = H | ; R ₁ = Et ; R ₂ = TMS |
| (<u>2</u>) R = H | ; R ₁ = R ₂ = TMS |
| (<u>3</u>) R = Me | ; R ₁ = R ₂ = TMS |
| (<u>4</u>) R = Et | ; R ₁ = R ₂ = TMS |
| (<u>5</u>) R = Pr | ; R ₁ = R ₂ = TMS |
| (<u>6</u>) R = CH ₂ CO ₂ TMS | ; R ₁ = R ₂ = TMS |
| (<u>7</u>) R = NHCOCH ₃ | ; R ₁ = R ₂ = TMS |

Traités (5 à 6 mM) par le n-BuLi (4 mM) à - 60°C dans l'éther anhydre, ces esters ont été lithiés. Les organolithiens ainsi obtenus sont plus réactifs que les organosodiques correspondants. Ils ont été acylés dans le diméthoxyéthane (DME) entre - 60°C et la température ambiante par divers chlorures d'acides (carboxyl ¹⁴C) (2 mM), ou cétone α-bromée (¹⁴C).

Les composés acyl malonates de TMS (25) non isolés, sont hydrolysés par l'eau à température ambiante, au contraire des esters éthyliques et t-butyliques conventionnels, avec formation intermédiaire des acides



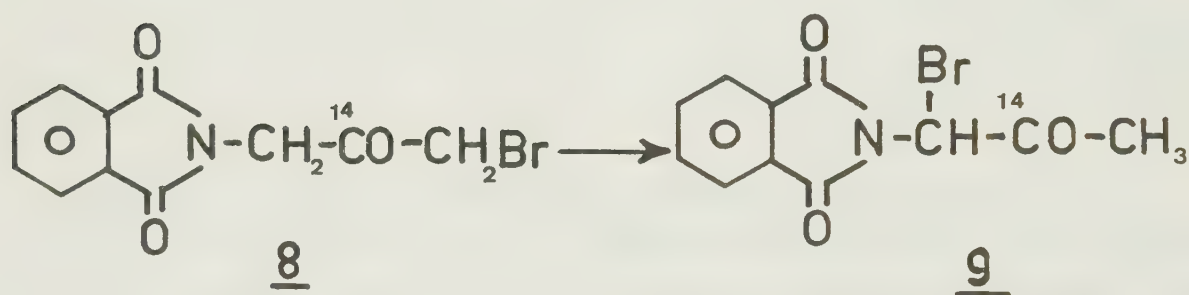
acylmaloniques (26) qui se décarboxylent spontanément avec la formation, avec d'excellents rendements, d'acides ou esters cétoniques, de cétones de divers types marqués au ¹⁴C sur le carboxyle.

1 - Le chlorure de benzoyle (¹⁴CO) et le malonate d'éthyle et de TMS (1) ont conduit au benzoyle (¹⁴CO) acétate d'éthyle avec un rendement de

85 % par rapport au chlorure d'acide.

2 - La bromo-1 phtalimido-3-propanone-2 (8) obtenue par réaction de Arndt Eistert sur le chlorure de phtalylglycine a donné avec le malonate de TMS (2) l'acide δ -AAL- (^{14}C -4) avec un rendement global de l'ordre de 70 %, ce qui constitue une nette amélioration du même procédé mettant en jeu le malonate de t-butyle.

Si, lors de la préparation de la bromocétone (8) on emploie un large excès de HBr sur la diazocétone correspondante et opère à la température ambiante, il y a isomérisation partielle de (8) en (9)



avec la formation concurrente finale d'acide β -aminolévulique (β -AAL), qui a été isolé et devient même le produit prépondérant.

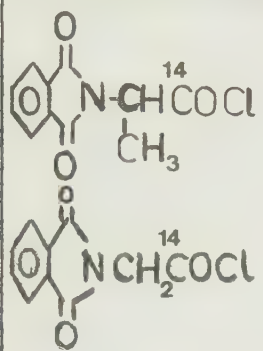
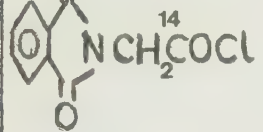
3 - La condensation de chlorures d'acides sur des alcoyl malonates de TMS (3 - 5) constitue une méthode de préparation de cétones ^{14}CO qui a donné les résultats suivants :

Chlorures d'acides	Malonates TMS	Produits obtenus	Rendement %
PhCOCl	(<u>3</u>)	propiophénone	80
PhCOCl	(<u>4</u>)	butyrophénone	75
PhCOCl	(<u>5</u>)	phényl-1 pentanone-1	87
(MeO) ₂ -3, 5 PhCOCl	(<u>5</u>)	(diméthoxy-3, 5 phényl)-1 pentanone-1	90

La (diméthoxy-3, 5 phényl)-1 pentanone-1 (¹⁴C-1) peut être réduite ^{puis} déméthylée en olivetol ¹⁴C, intermédiaire de la synthèse du Δ^8 -tétrahydrocannabinol.

4 - La condensation du chlorure de phtalylglycine (¹⁴C-1) sur le dérivé lithié de l'éthanetricarboxylate-1, 1, 2 de TMS (6) suivie d'hydrolyse chlorhydrique a donné un rendement de 75 % en δ -AAL (¹⁴C-4) (radiochimiquement pur) par rapport à la glycine (¹⁴C-1). Appliquée à la glycine (¹⁴C-2) la méthode constitue également un procédé de préparation de δ -AAL (¹⁴C-5) avec un rendement global encore jamais atteint.

5 - Le procédé a été généralisé pour la préparation de cétoacides ω -aminés et de cétoacides, par condensation de chlorures d'acides sur les dérivés lithiés d'esters TMS d'acides alcanetricarboxyliques-1, 1, 2 et 1, 1, 4. Les résultats résumés ci-dessous montrent que l'on obtient ainsi des analogues méthylés et homologues de δ -AAL. La méthode constitue une méthode d'allongement de chaîne.

R^*COCl	n	R_1	Produits obtenus	Rendement $R-CO_2H$ %
	0	H	$NH_2-\underset{\underset{CH_3}{ }}{CH}-\overset{*}{\underset{\underset{O}{ }}{C}}(CH_2)_2CO_2H$	70
	2	H	$NH_2CH_2\overset{*}{CO}(CH_2)_3CO_2H$	80
idem	0	CH_3	$NH_2CH_2\overset{*}{CO}-CH_2-\underset{\underset{CH_3}{ }}{CH}-CO_2H$	20
Ph^*COCl	0	H	$Ph-\overset{*}{CO}(CH_2)_2CO_2H$	80
CH_3^*COCl	0	H	$CH_3-\overset{*}{CO}-(CH_2)_2CO_2H$	60
$ \begin{array}{c} \begin{array}{c} CO_2TMS \\ \\ * 1 / Li - C - (CH_2)_n - CH - CO_2TMS \\ \qquad \qquad \\ CO_2TMS \qquad R_1 \end{array} \\ R^*COCl \xrightarrow[2 / H^+]{\hspace{10em}} R^*CO-(CH_2)_{n+1} - \underset{\underset{R_1}{ }}{CH} - CO_2H \end{array} $				

6 - Par condensation de chlorures d'acides (^{14}CO) sur le dérivé lithié de l'acétamido malonate de TMS (7) on a uniquement C-acylation ce qui donne une méthode facile de préparation d'amines primaires α -cétoniques. Les résultats du tableau ci-dessous montrent que l'on a aussi obtenu δ - AAL non marqué.

RCOCl ou R-COCH ₂ Br	Produits obtenus	Rendement/ R-COCl (°/°)
CO ₂ C ₂ H ₅ -(CH ₂) ₂ COCl	CO ₂ H-(CH ₂) ₂ -CO-CH ₂ NH ₂ , HCl	60
* PhCOCl	* Ph-CO-CH ₂ NH ₂ , HCl	88
(MeO) ₂ -3,4 * PhCOCl	(OH) ₂ -3,4 * PhCO-CH ₂ NH ₂ , HCl	75
(<u>8</u>)	* NH ₂ CH ₂ C(=O)-CH ₂ -CH(NH ₂)-CO ₂ H	30

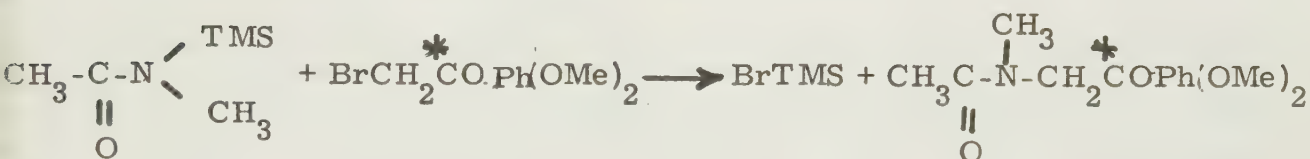
$ \begin{array}{c} 1 / \text{Li C (CO}_2 \text{ TMS)}_2 \\ \\ \text{NHAc} \end{array} $	$ \begin{array}{c} \text{R-COCl} \xrightarrow[2 / \text{H}^+]{1 / \text{Li C (CO}_2 \text{ TMS)}_2, \text{NHAc}} \text{R-CO-CH}_2\text{NH}_2, \text{HCl} \end{array} $
---	--

De plus, la méthode a permis d'obtenir avec un rendement élevé la noradrénaline (¹⁴C-7) dont la réduction catalytique a fourni la noradrénaline (¹⁴C-7). Appliqué à la phthalimido bromopropanone (8), le procédé a fourni avec un rendement moyen la cétoornithine (¹⁴C-4) qui peut être transformée en histidine.

7 - Nous avons tenté d'étendre la méthode précédente à la préparation d'amines secondaires α-cétoniques en opposant le chlorure de véatroyle (¹⁴CO) au dérivé lithié tris - TMS de l'acide méthylaminomalonique. Dans ce cas, il n'y a pas de C-acylation mais formation uniquement de l'amide : (CH₃O)₂-3,4 Ph-CO-N-CH(CH₃)(CO₂ TMS)₂ dont l'hydrolyse acide donne l'acide

protocatéchique. Par contre, avec le lithien du N-acétyl méthylaminomalonate de TMS impur et le chlorure de vératroyle il y a 70 % de N-acylation et 30 % de C-acylation. Après hydrolyse, on a obtenu l'adrénaline avec un rendement de 30 % en produit non isolé.

8 - L'adrénalone (^{14}C -7) a été obtenue avec un rendement de 30 % par action du N-TMS-N méthylamidure de lithium dans le DME sur la bromo-1 (diméthoxy-3,4 phényl)-3 propanone-2 (10) suivie d'hydrolyse bromhydrique. Mais le procédé le plus satisfaisant de préparation d'adrénalone (^{14}C -7) a consisté en l'action à 80°C de la cétone bromée (10) sur le N-TMS N-méthylacétamide dans le DME suivant le schéma :



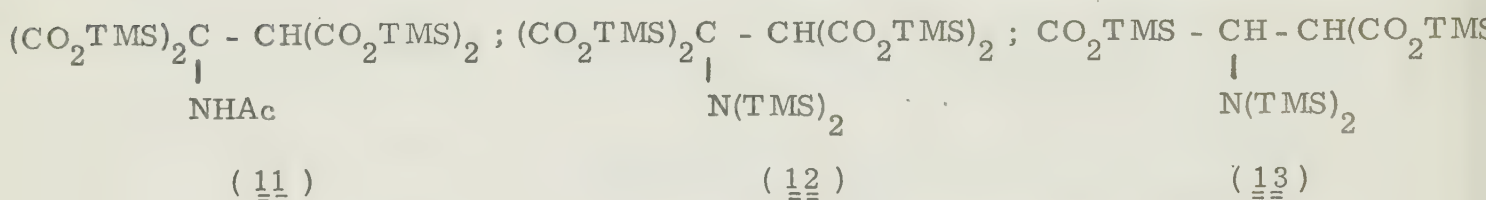
Après hydrolyse, le rendement en adrénalone a été de 60 % .

9 - Pour la préparation de cétones α -aminées, la C-acylation de dérivés lithiés d'acides α -aminés triméthylsilylés a également été examinée. Les résultats du tableau ci-dessous montrent que, dans presque tous les cas, l'acylation sur l'azote a été prépondérante, ou bien qu'il y a eu simultanément C- et N-acylations.

RCOCl	Dérivés lithiés	Produits obtenus
PhCOCl	(TMS) ₂ NCHLiCO ₂ TMS	α -aminoacétophénone (12%) + acide hippurique (18 %) + PhCO-NH-CH ₂ -COPh(12%)
PhCOCl	AcNLiCHLiCO ₂ TMS	α -aminoacétophénone (30 %)
PhCOCl	CF ₃ CONLiCHLiCO ₂ TMS	α -aminoacétophénone (20 %)

Les essais d'obtention d'adrénalone (^{14}C -7) par hydrolyse du produit de condensation du chlorure de vératroyle sur les N-acétyl et N-trifluoracétylsarcosinate de TMS ont été négatifs.

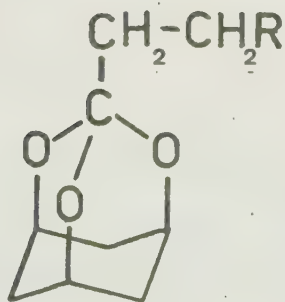
10 - La condensation du chlorure de phtalylglycine (^{14}C -1) sur les dérivés lithiés des composés TMS suivants :



en vue d'obtenir, après hydrolyse, la céto-4 ornithine a été peu satisfaisante ; seul le composé (11) a fourni le produit voulu avec un rendement de 10 % seulement.

B - Le groupe trioxa-2,4,10 adamantane comme fonction carboxylique masquée

1 - L'organomagnésien (15) a été préparé pour la première fois.



(14) R = OH

(15) R = MgBr

(16) R = CO_2H^*

(17) R = COCl^*

(18) R = $\text{CO-CH}_2\text{Br}^*$

(19) R = CH_2OH^*

Par réaction avec des réactifs électrophiles, il permet d'introduire le groupe propionique. Sa carbonatation avec $^{14}\text{CO}_2$ a donné, avec un rendement de

80 %, l'acide (16), dont la fonction carboxyle peut ensuite être transformée et ainsi a servi à l'élaboration de plusieurs composés marqués.

2 - Par application de la réaction de Arndt Eistert, le chlorure de cet acide (17) a donné la cétone bromée intermédiaire (18) dont la phtalimide suivie d'hydrolyse a fourni δ -AAL (^{14}C -4) avec un rendement global de 35 % par rapport à $^{14}\text{CO}_3\text{Ba}$. Il a été observé que si, lors de la préparation de la cétone bromée (18), un large excès de HBr concentré est employé, cette cétone se réarrange en un mélange de cétones bromées dont l'amination par l'intermédiaire du phtalimide de potassium donne en proportions égales : α AAL (^{14}C -4), β AAL (^{14}C -4) et δ AAL (^{14}C -4) qui ont été séparés et identifiés.

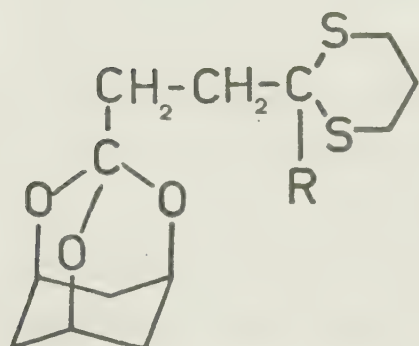
3 - Nous avons encore réduit le nombre d'étapes pour parvenir à δ -AAL (^{14}C -4) et évité la formation de α et β AAL en condensant le chlorure d'acide (17) ci-dessus sur le dérivé lithié de l'acétamidomalonate de TMS (7) (paragraphe A.6). Le rendement global en δ AAL (^{14}C -4) est de 55 % par rapport à $^{14}\text{CO}_3\text{Ba}$.

4 - L'acide (16) réduit en alcool (19) par LiAlH_4 , après hydrolyse, a fourni la γ -butyrolactone (^{14}C -4) qui a été transformée, après miniaturisation de procédés de la littérature, en DL-homosérine (^{14}C -4) et DL-méthionine (^{14}C -4).

5 - Le spectre de RMN des protons du cycle trioxa-2,4,10 adaman-tane a été étudié en utilisant le tris (dipivalométhano) europium III.

6 - Des essais d'utilisation des groupes : diméthyl-4,4 oxazolinyl et méthyl-4 trioxa-2,6,7 bicyclo-(2,2,2) octanyl-1 comme fonctions carboxyliques masquées ont été négatifs.

C - Les groupes trioxa-2,4,10 adamantane et dithiane-1,3 pour la synthèse de δ A A L (^{14}C -5)



(20) R = H

(21) R = Li

(22) R = $^{14}\text{CO}_2\text{H}$

(23) R = $^{14}\text{CONH}_2$

(24) R = $^{14}\text{CH}_2\text{NH}_2$

Le composé (20) a été synthétisé. Il a été lithié par n-BuLi en (21) dont la carbonatation a conduit à l'acide ^{14}C (22). Cette fonction carboxyle a été transformée en groupe aminométhyle (24) par réduction (LiAlH_4) de l'amide (23). Le traitement de (24) par Cl_2Hg et l'hydrolyse acide régénèrent les fonctions cétone et carboxylique. Le rendement global en δ A A L (^{14}C -5) est de 10-15 % par rapport à $^{14}\text{CO}_3\text{Ba}$. Seule l'étape de régénération de la fonction cétone ne donne pas de bon rendement. Cette synthèse illustre l'utilisation d'un organo-lithien (21) comportant des fonctions carboxylique et aldéhydique masquées.

D. - Autres synthèses de δ A A L (^{14}C)

Des essais de synthèse de δ A A L (^{14}C) à partir d'acide acétylacrylique ou d'acétylène n'ont pas abouti.

Dans les synthèses présentées, la plupart des produits marqués décrits ont été purifiés par des techniques chromatographiques et leur pureté radiochimique contrôlée rigoureusement pour satisfaire aux exigences des études biochimiques.

BIBLIOGRAPHIE

- 1 - D. SHEMIN
Harvey Lect., 1954/1955, 50, 258.
- 2 - A. NEUBERGER et J. J. SCOTT
Nature, 1953, 172, 1093.
- 3 - C. RIMINGTON
Brit. Med. J., 1956, 2, 189.
- 4 - N. I. BERLIN, J. J. SCOTT, A. NEUBERGER
Biochem. J., 1956, 64, 80.
- 5 - J. C. WRISTON, L. LACK, D. SHEMIN
J. Biol. Chem., 1955, 215, 603.
- 6 - J. E. FALK, E. I. B. DRESEL, C. RIMINGTON
Nature, 1953, 172, 292.
- 7 - A. M. NEMETH, C. S. RUSSELL, D. SHEMIN
J. Biol. Chem., 1957, 229, 415.

- 8 - K.D. GIBSON, W.G. LAVER, A. NEUBERGER
Biochem. J., 1958, 68, 17P.
- 9 - D. SHEMIN, C.S. RUSSEL
J. Am. Chem. Soc., 1953, 75, 4873.
- 10 - D. SHEMIN, J.W. CORCORAN
Science, 1956, 124, 272.
- 11 - J.W. CORCORAN, D. SHEMIN
Biochem. et Biophys. Acta , 1957, 25, 661.
- 12 - R.C. BRAY
Dissertation Abst., 1961, 22, 48.
- 13 - J.D. OSTROW, L. HAMMAKER, R.J. SCHMID
Clin. Invest., 1961, 40, 1442.
- 14 - B. HAEGER, B. ARONSEN
Scand. J. Clin. Lab. Invest., 1960, 12, suppl. 47.
- 15 - D. SHEMIN, G.S. RUSSEL, R. ABRAMSKY
J. Biol. Chem., 1956, 215, 613.
- 16 - L. PICHAT, M. HERBERT
Bull. Soc. Chim., 1957, 673.
- 17 - N.V. GNUCHEV, N.A. NEIMANN, A.A. POZNANSKAYA
Biokimiya, 1965, 30, n° 1, 161.

- 18 - L. PICHAT, J. LOHEAC, M. HERBERT
Bull. Soc. Chim., 1966, 3268.
- 19 - L. PICHAT, J. LOHEAC, M. HERBERT, G. CHATELAIN
Bull. Soc. Chim., 1966, 3271.
- 20 - H. GILMAN, F.K. CARTLEDGE
J. of Organometallic Chem., 1964, 2, 447.
- 21 - L. WOLFF
Chem. Ber., 1887, 20, 425.
- 22 - C.D.HURD, J.R. FERRARO
J. Org. Chem., 1951, 16, 1639.
- 23 - C. RAPPE
Ark. Kemi., 1959, 13, 425.
- 24 - K. BREWSTER, R.M. PINDER
Synthesis, 1971, 6, 307.
- 25 - A.C.B. SMITH, W. WILSON, R. WOODGER
Chem. et Ind., 1954, 309.
- 26 - A.W. SCHRECKER, M.M. TRAIL
J. Am. Chem. Soc., 1958, 80, 6077.
- 27 - H. BURSOOK, C.L. DEASY, A.J. HAAGEN-SMIT,
G. KEIGHLEY, P.H. LOWY
J. Biol. Chem., 1950, 187, 839.

- 28 - O. WISS, H. FUCHS
Helv. Chim. Acta., 1952, 35, 407.
- 29 - R. RÜHLMAN, G. KUHRT
Angew. Chem. Int. Edit., 1968, 7, 809.
- 30 - H. BEYER
Z. Chem., 1970, 10, 392.
- 31 - F. WEYGAND, R. GEIGER
Chem. Ber., 1956, 89, 647.
- 32 - F.C. UHLE, L.S. HARRIS
J. Am. Chem. Soc., 1956, 78, 381.
- 33 - A.L. LOVE, T.D. ALGER, R.K. OLSEN
J. of Phys. Chem., 1972, 76, 853.
- 34 - R.W. SCHAYER
J. Am. Chem. Soc. 1953, 75, 1757.
- 35 - R.O. SAUER, R.H. HASEK
J. Am. Chem. Soc., 1946, 68, 243.
- 36 - M.R. KRICHELDORF, G. GREBER
Chem. Ber., 1971, 104, 3131.
- 37 - P.E. EATON, G.F. COOPER, R.C. JOHNSON, R.H. MUELLER
J. Org. Chem., 1972, 37, 1947.

- 38 - R.E. BOWMAN
J. Chem. Soc., 1950, 322.
- 39 - L.H. SOMMER, E.W. PIETRUSKA, F.C. WHITMORE
J. Am. Chem. Soc., 1946, 68, 2282.
- 40 - M.F. SHESTAKOVSKII, I.A. SHIKHIEV, D.A. KOCHKIN,
V.I. BELGAEV
Chem. Abstr., 1956, 50, 162c.
- 41 - C.C. PRICE, T. PADMANATHAN
J. Org. Chem., 1965, 30, 2064.
- 42 - R. SCHOLL, K. HOLDERMANN, A. LANGER
Monatsh. Chem., 1912, 625.
- 43 - E. PHILIPPI, A. UHL
Monatsh. Chem., 1912, 717.
- 44 - E. PHILIPPI, F. SCKA
Monatsh. Chem., 1924, 45, 279.
- 45 - H. STETTER, K.H. STEINACKER
Chem. Ber., 1953, 86, 790.
- 46 - H. STETTER, K.H. STEINACKER
Chem. Ber., 1954, 87, 205.
- 47 - F. BOHLMAN, W. SUCROW
Chem. Ber., 1964, 97, 1839.

- 48 - G.H. WAHL, M.R. PETERSON
J. Chem. Soc. (D), 1970, 1167.

- 49 - A.F. COCKERILL, D.M. RACKHAM
Tetrah. Letters, 1970, 59, 5149.

- 50 - R. ROGER, D.G. NEILSON
Chem. Rev., 1961, 61, 197.

- 51 - A. PINNER
"Die Imidoaether und ihre Derivate" Oppenheim - Berlin, 1892.

- 52 - A. PINNER
Ber., 1883, 16, 1643.

- 53 - G. BRANDE
J. Org. Chem., 1957, 22, 1675.

- 54 - P. REYNAUD, R.C. MOREAU
Bull. Soc. Chim., 1960, 2002.

- 55 - P. REYNAUD, R.C. MOREAU
Bull. Soc. Chim., 1964, 2997.

- 56 - F.C. SCHAEFER, G.A. PETERS
J. Org. Chem., 1961, 26, 412.

- 57 - S.M. MAC ELVAIN, C.L. STEVENS
J. Am. Chem. Soc., 1947, 69, 2663.

- 58 - S.M. MAC ELVAIN, B.E. TATE
J. Am. Chem. Soc., 1951, 73, 2233.

- 59 - S.M. MAC ELVAIN, J.W. NELSON
J. Am. Chem. Soc., 1942, 64, 1825.

- 60 - J.P. SCHROEDER, D.C. SCHROEDER, J. HARDIN,
J.K. MARSHALL
J. Org. Chem., 1969, 34, 3332.

- 61 - C.H.V. DUSSEAU, S.E. SCHAAFSMA, T.J. DE BOER
Rec. Trav. Chim. Pays Bas, 1970, 89, 535.

- 62 - L. PICHAT, J.P. GUERMONT, D. SHAREFKIN
Rapport C.E.A., 1966, 2989.

- 63 - F. SCHLEWK, R.L. SMITH
J. Biol. Chem., 1953, 204, 27.

- 64 - P. BAECKSTRÖM, G. SUNDSTRÖM
Acta Chem. Scand., 1970, 24, 716.

- 65 - X.A. DOMINGUEZ, D.I.C. LOPEZ, R. FRANCO
J. Org. Chem., 1961, 26, 1625.

- 66 - J. HOOZ, S.S.H. GILANI
Can. J. of Chem., 1968, 46, 86.

- 67 - H. GILMAN, R.G. JONES
J. Am. Chem. Soc., 1941, 63, 1441.

- 68 - D.E. PEARSON, D. COWAN, J.D. BECKLER
J. Org. Chem., 1959, 24, 504.

- 69 - D.E. PEARSON, D. COWAN
"Org. Synthesis", W.E. PARHAM Ed., New York, 1964, 44, 78.
- 70 - J.W. CORNFORTH
Heterocycl Compounds, Interscience Publishers, New York,
1957, 5, 386.
- 71 - F. KORTE , J. VOGEL
J. Chromatog., 1962, 9, 381.
- 72 - R. SUDÔ
Nippon Kagaku Zasshi, 1958, 79, 81.
- 73 - M. FRANKEL, Y. KNOBLER, J. SHERADSKY
J. Chem. Soc., 1959, 3642.
- 74 - G. TALBOT, R. GAUDRY, L. BERLINGUET
Can. J. of Chem., 1958, 36, 593.
- 75 - J.E. LIVAK, E.C. BRITTON, J.C. Van der WEELE, M.F. MURRAY
J. Am. Chem. Soc., 1945, 67, 2218.
- 76 - H. PLIENINGER
Chem. Ber., 1950, 83, 265.
- 77 - M.D. AMSTRONG
J. Am. Chem. Soc., 1949, 71, 3399.
- 78 - E.M. HILL, W.R. OBSON
Biochem. J., 1936, 30, 248.

- 79 - E. FISCHER, H. BLUMENTHAL
Ber., 1907, 40, 111.
- 80 - H.L. WEHRMEISTER
J. Org. Chem., 1962, 27, 4418.
- 81 - F.E. RAY, R.C. GEISER
Cancer Research, 1950, 10, 616.
- 82 - V.F. RAAEN, G.A. ROPP
Nuc. Sci. Abstracts, 1952, 6, 4759.
- 83 - D. SEEBACH
Synthesis, 1969, 17.
- 84 - E.J. COREY, D. SEEBACH
Angew. Chem. Internat. Edit., 1965, 4, 1075.
- 85 - E.J. COREY, D. SEEBACH
Angew. Chem. Internat. Edit., 1965, 4, 1077.
- 86 - D. SEEBACH, N.R. JONES, E.J. COREY
J. Org. Chem., 1968, 33, 300.
- 87 - M.S. GIBSON, R.W. BRADSHAW
Angew. Chem. Internat. Edit., 1963, 7, 919.
- 88 - E.J. SAKELLARIOS
Helv. Chem. Acta, 1946, 29, 1675.

- 89 - F.C. MAC CARTY, P.D. ROSENSTOCK, J.P. PAOLINI,
D.D. MICUCCI, L. ASHTON, W.W. BENNETTS,
F.P. PALOPOLI
J. Med. Chem., 1968, 11, 534.
- 90 - NUNG MIN YOON, H.C. BROWN
J. Amer. Chem. Soc., 1968, 11, 2927.
- 91 - V.M. MICOVIC, M.L.J. MIHAILOVIC
J. Org. Chem., 1953, 18, 1190.
- 92 - M. CERNY, J. MALEK, M. CAPKA, V. CHVALOVSKY
Collect. Czechoslov. Chem. Commun., 1969, 34, 1033.
- 93 - D. SEEBACH, D. STEINMÜLLER
Angew. Chem. Internat. Edit., 1968, 7, 619.
- 94 - D. SEEBACH, D. STEINMÜLLER, F. DEMUTH
Angew. Chem. Internat. Edit., 1968, 7, 620.
- 95 - E.J. COREY, D. SEEBACH, R. FREEDMAN
J. Amer. Chem. Soc., 1967, 89, 434.
- 96 - A.G. BROOK, J.M. DUFF, P.F. JONES, N.R. DAVIS
J. Amer. Chem. Soc., 1967, 89, 431.
- 97 - E. VEDEJS, P.L. FUCHS
J. Org. Chem., 1971, 36, 366.
- 98 - P.R. HEATON, J.M. MIDGLEY, W.B. WHALLEY
Chem. Comm., 1971, 750.

- 99 - P. ALLEN, J. GINOS
J. Org. Chem., 1963, 28, 2759.
- 100 - A.I. MEYERS, D.L. TEMPLE
J. Amer. Chem. Soc., 1970, 92, 6644.
- 101 - M.T. LEFFLER, R. ADAMS
J. Amer. Chem. Soc., 1937, 59, 2252.
- 102 - H.L. WEHRMEISTER
J. Org. Chem., 1961, 26, 3821.
- 103 - Celanese Corporation of America - Brevet Nederland
n° 6412 636 (1964).
- 104 - R.A. BARNES, G. DOYLE, J.A. HOFFMAN
J. Org. Chem., 1962, 27, 90.
- 105 - E.J. COREY, J.E. ANDERSON
J. Amer. Chem. Soc., 1967, 32, 4160.
- 106 - H. REINHECKEL, K. HAAGE
Angew. Chem. Internat. Edit., 1966, 5, 511.
- 107 - L. PICHAT, J. LOHEAC, M. HERBERT
Bull. Soc. Chim., 1966, 3564.
- 108 - W.E. DANIELS, M.E. CHIDDIX, S.A. GLICKMANN
J. Org. Chem., 1963, 28, 573.
- 109 - D.V.C. AWANG, S. WOLFE
Can. J. Chem., 1969, 47, 706.

- 110 - G.P. CHIUSOLI, L. CASSAR
Angew. Chem. Internat. Edit., 1967, 6, 124.
- 111 - G.P. CHIUSOLI, L. CASSAR
La Chimica e l'Industria, 1966, 48, 324.
- 112 - M. FOA, L. CASSAR, M.T. VENTURI
Tetrahedron Letters, 1958, 1357.
- 113 - L. CASSAR, G.P. CHIUSOLI
Tetrahedron Letters, 1966, 2805.
- 114 - L. CASSAR, G.P. CHIUSOLI
Tetrahedron Letters, 1965, 3295.
- 115 - A.E. PIERCE
"Silylation of Organic Compounds"
Pierce Chemical Company - Rockford, Illinois, 1968.
- 116 - C.C. SWEeley, R. BENTLEY, M. MAKITA, W.W. WELLS
J. Amer. Chem. Soc., 1963, 85, 2497.
- 117 - D. SEYFERTH, G. SINGH, R. SUZUKI
Pure Appl. Chem., 1966, 13, 159.
- 118 - R. WEST, R.H. BANEY
J. Amer. Chem. Soc., 1959, 81, 6145.
- 119 - L.H. SOMMER
"Stereochemistry, Mechanism and Silicon"
Mc Graw Hill, New York, 1965, 69.

- 120 - J.M. MALLAN, R.L. BEBB
Chem. Rev., 1969, 69, 693.
- 121 - L. MIGINIAC-GROIZELEAU
Bull. Soc. Chim., 1963, 1449.
- 122 - H.D. ZOOK, T.J. RUSSO
J. Amer. Chem. Soc., 1960, 82, 1258.
- 123 - K. ZIEGLER, H. COLONIUS
Ann., 1930, 479, 135.
- 124 - D.E. APPLEQUIST, D.F. O'BRIEN
J. Amer. Chem. Soc., 1963, 85, 743.
- 125 - D.Y. CURTIN, W.J. KOEHL
J. Amer. Chem. Soc., 1962, 84, 1967.
- 126 - R. WAACK, M.A. DORAN, P.E. STEVENSON
J. Organomet. Chem., 1965, 3, 481.
- 127 - G. BRAM, M. VILKAS
Bull. Soc. Chim., 1964, 945.
- 128 - C.R. HAUSER, B.E. HUDSON
J. Org. React., 1942, 1, 266.
- 129 - L. BOUVAULT, A. BONGERT
Bull. Soc. Chim., 1902, 27, 1046.
- 130 - M. VISCONTINI, N. MERCKLING
Helv. Chim. Acta, 1952, 35, 2280.

- 131 E.E. BLAISE
C.R. Acad. Sci., 1901, 132, 978.
- 132 - V.H. WALLINGFORD, H. HOMEYER, D.M. JONES
J. Amer. Chem. Soc., 1941, 63, 2252.
- 133 - R. LEVINE, R.C. HAUSER
J. Amer. Chem. Soc., 1944, 66, 1768.
- 134 - P. FREON, F. TATIBOUET
C.R. Acad. Sci., 1957, 244, 2399.
- 135 - B. RIEGEL, W.M. LILIENFIELD
J. Amer. Chem. Soc., 1945, 67, 1273.
- 136 - D.S. BRESLOW, E. BAUMGARTEN, C.R. HAUSER
J. Amer. Chem. Soc., 1944, 66, 1286.
- 137 - R.E. BOWMAN, W.D. FORDHAM
J. Chem. Soc., 1952, 3945.
- 138 - U. SCHMIDT, M. SCHWOCHAU
Tetrahedron Letters, 1967, 10, 875.
- 139 - A. WAKIM, C. ESSEX
Circulation (N.Y.), 1952, 5, 370.
- 140 - A. MOYER, D. HANDLEY
Circulation (N.Y.), 1952, 5, 91.
- 141 - F.J. GRIFFITH
Physiol. Rev., 1951, 31, 151.

- 142 - R.W. SCHAYER
J. Amer. Chem. Soc., 1953, 75, 1757.
- 143 - D.R. HOWTON, J.F. MEAD, W.G. CLARK
J. Amer. Chem. Soc., 1955, 77, 2896.
- 144 - I.KH. FELDMAN, V.I. ZLOBINA, E.N. LEONOVA
Chem. Abstr., 1966, 65, 18515.
- 145 - L. PICHAT
Proceedings of the second U.N.O. on the peaceful uses of
Atomic Energy
United Nations Publications - Genève, 1958, 20, 82.
- 146 - J.L. NILSSON, I.M. NILSSON, S. AGURELL
Acta. Chem. Scand., 1969, 23, 2209.
- 147 - A.A. LIEBMAN, D.H. MALAREK, A.M. DORSKY, H.H. KAEGI
J. Labelled Compounds, 1971, 7, 241.
- 148 - W. GAU, D. BIENICK, F. KORTE
Tetrahedron Letters, 1972, 25, 2507.
- 149 - J.J. RITTER, E.J. TILLMANS
J. Org. Chem., 1957, 22, 839.
- 150 - M. KARPLUS
J. Amer. Chem. Soc., 1963, 85, 2870.

- 151 - L. PICHAT, M. HERBERT, C. FABIGNON
Proceedings of the Second International Conference on preparation
and storage of labelled Compounds. Bruxelles. 28 Nov-3 Dec. 1966,
p. 427.
- 152 - H. NAITO, M. KANDATSU
Chem. Abst., 1968, 68, 87528d.
- 153 - K. HEISE, E. MITTAG
Chem. Abst., 1965, 63, 8478.
- 154 - H. TARVER, C.L.A. SCHMIDT
J. Biol. Chem., 1939, 130, 67.
- 155 - G.W. KILMER, V. du VIGNEAUD
J. Biol. Chem., 1944, 154, 247.
- 156 - K. SAMUCHOCKA, J. KOWALCZYK
Radiochem. Radioanal. Letters, 1970, 4, 131.
- 157 - R.A. RONZIO, W.B. ROWE, A. MEISTER
Biochem., 1969, 8, 1066.
- 158 - P.T. ADAMS, M. KIRK, A. KLEERUP, B.M. TOLBERT
U.C.R.L., 1956, 22, 3351.
- 159 - D.B. MELVILLE, J.R. RACHELE, E.B. KELLER
J. Biol. Chem., 1947, 169, 419.
- 160 - A.I. MEYERS, I.R. POLITZER, B.K. BANDLISH, G.R. MALONE
J. Amer. Chem. Soc., 1969, 91, 5886.

- 161 - J.E. DUBOIS, F. HENNEQUIN, M. DURAND
Bull. Soc. Chim., 1963, 791.
- 162 - S.M. Mc ELVAIN, J.P. SCHROEDER
J. Amer. Chem. Soc., 1949, 71, 40.

==:==:==:==:==

Vu et approuvé
ORSAY, le 15 novembre 1972
Le Vice-Président du Centre d'Orsay



A handwritten signature in dark ink, appearing to be "J. Culbert", written over a large, stylized circular flourish.

